

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

MĚŘENÍ PŘESNOSTI OSOBNÍCH GLUKOMETRŮ

ACCURACY OF PERSONAL GLUCOMETERS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Markéta Kroulíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jiří Sekora

BRNO 2020

Bakalářská práce

bakalářský studijní obor **Biomedicínská technika a bioinformatika**

Ústav biomedicínského inženýrství

Studentka: Markéta Kroulíková

ID: 203671

Ročník: 3

Akademický rok: 2019/20

NÁZEV TÉMATU:

Měření přesnosti osobních glukometrů

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Prostudujte problematiku měření koncentrace glukózy v krvi. Zabývejte se studiem systémové chyby měření patientských glukometrů s ohledem na možná podhodnocení či nadhodnocení skutečné hodnoty glykémie. 2) Navrhněte způsob testování glukometru. Navrhněte vhodný vzorek pro referenční měření. 3) Na základě parametrů glukometrů uvedených výrobcem stanovte potřebný počet měření, která přinesou statisticky relevantní výsledky. 4) Proveďte analýzu systémové chyby měření vybraných glukometrů. Analyzujte osobní glukometr iHealt, případně glukometry jiných značek. 5) Statisticky vyhodnoťte získané výsledky.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] CHASE, H. Peter. A first book for understanding diabetes. 13th edition. Denver, CO: Childrens Diabetes Foundation, 2014. ISBN 9780983265047.

[2] MCMILLIN, JM. Blood Glucose. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 141.

Termín zadání: 3.2.2020

Termín odevzdání: 5.6.2020

Vedoucí práce: Ing. Jiří Sekora

Konzultant: MUDr. Michal Jurajda, Ph.D.

prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.
předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

Autor bakalářské práce nesmí při vytváření bakalářské práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá měřením přesnosti osobních glukometrů. Teoretická část je zaměřená na zpracování informací o glukóze a její roli v organismu, diabetu mellitu, postupech a přístrojích používaných při selfmonitoringu glykemie. Další část je zaměřena na přípravu praktické části, zejména popis dostupného osobního glukometru, výpočet potřebných měření k provedení experimentu a popis referenčního vzorku k naměření dat.

KLÍČOVÁ SLOVA

Glukóza, glykemie, diabetes mellitus, cukrovka, selfmonitoring, glukózový biosenzor, glukometry, testovací proužky, přesnost glukometrů, testování glukometrů

ABSTRACT

This thesis deals with accuracy measurement of personal glucometers. The theoretical part is focused on processing information about glucose and its role in organism, diabetes mellitus, procedures and devices used in self-monitoring of glucose. The next part is focused on preparation of practical part, especially describing available personal glucometer, testing its measuring accuracy, the calculation of necessary measurements to perform the experiment and a description of the reference sample for data measurement.

KEYWORDS

Glucose, glycemia, diabetes mellitus, diabetes, self-monitoring, glucose biosensor, glucometers, test strips, accuracy of glucometers, testing of glucometers

KROULÍKOVÁ, Markéta. *Měření přesnosti osobních glukometrů*. Brno, 2020, 60 s. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav biomedicínského inženýrství. Vedoucí práce: Ing. Jiří Sekora

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma „Měření přesnosti osobních glukometrů“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autorka uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této bakalářské práce jsem neporušila autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhla nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědoma následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

Brno

.....

podpis autorky

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych ráda poděkovala panu Ing. Jiřímu Sekorovi, vedoucímu mé bakalářské práce, za odborné vedení, ochotu, čas a podporu při řešení práce.

Dále bych také ráda poděkovala panu MUDr. Michalu Jurajdovi, PhD. za odborné konzultace a podnětné návrhy k práci.

Obsah

Úvod	10
1 Glukóza	11
1.1 Metabolismus glukózy v těle	11
1.2 Glykemie	14
1.2.1 Glykemický index	15
1.2.2 Glykemický profil	15
1.2.3 Hypoglykemie	15
1.2.4 Hyperglykemie	16
1.3 Diabetes mellitus	16
1.3.1 Diabetes mellitus 1. typu (DM1T)	17
1.3.2 Diabetes mellitus 2. typu (DM2T)	18
1.3.3 MODY - Maturity Onset Diabetes of the Young	18
1.3.4 Gestační Diabetes mellitus	18
2 Měření glukózy v krvi	19
2.1 Způsob měření glukózy v krvi	19
2.2 Biosenzory	19
2.2.1 Elektrochemické biosenzory	24
2.2.2 Glukózové biosenzory	25
2.3 Testovací proužky	28
3 Osobní glukometry	30
3.1 Základní implementace osobního glukometru	30
3.1.1 Transimpedanční zesilovač – převod proudu na napětí	31
3.1.2 Zesílení a filtrace	32
3.1.3 Generátor referenčního napětí	32
3.1.4 Měnič referenčního napětí	33
3.2 Přesnost měření osobních glukometrů	34
3.3 Testování osobních glukometrů v praxi	35
3.4 Vyhodnocení přesnosti měření osobních glukometrů v praxi	36
4 Měření a analýza přesnosti osobního glukometru	38
4.1 Referenční vzorek pro testování	38
4.1.1 Plazmatický ekvivalent	39
4.1.2 Glukóza v roztoku	39
4.2 Vlastní testování osobního glukometru	40
4.2.1 Popis vybraného osobního glukometru	40

4.2.2	Stanovení počtu potřebných měření	42
4.2.3	Experimentální testování glukometru	42
4.2.4	Analýza a vyhodnocení získaných výsledků	46
	Závěr	54
	Literatura	55

Seznam obrázků

1.1	Časové kolísání hladiny glukózy v krvi v závislosti na vylučování inzulínu během dne	12
1.2	Vyrovňování hladiny glukózy v krvi pomocí regulačních mechanismů .	14
2.1	Biosenzor jako komplexní systém	20
2.2	Statická přenosová charakteristika	22
2.3	Statické parametry senzorů	23
2.4	Rovnice Michaelise-Mentové	24
2.5	Typické charakteristiky amperometrického senzoru	25
2.6	Cyklická voltametrie	26
2.7	Enzymaticko-amperometrická metoda	27
2.8	Vrstvy testovacího proužku	29
2.9	Blokové schéma zařízení pro měření glukózy z prstu	29
3.1	Blokové schéma – komponenty nezbytné pro fungování glukometru . .	31
3.2	Transimpedanční zesilovač jako převodník proudu na napětí	31
3.3	Obvod pro zesílení a filtraci	32
3.4	Obvod generátoru referenčního napětí 0,1 V	32
3.5	Obvod měniče napětí	33
3.6	Obvod generátoru referenčního napětí $-0,4$ V	33
3.7	Rozdíl (odchylka) výsledku získaného glukometrem od referenční hodnoty	37
3.8	Klinicky významné zóny – graf Parkes Error Grid	37
4.1	Změna optické otáčivosti glukózy ve vodném prostředí	40
4.2	Glukometr a testovací proužek FORA Diamond	41
4.3	Thermomixer comfort 5355	43
4.4	Systémové odchylky	49
4.5	Velikost systémových odchylek pro koncentraci 2,5 mmol/l	50
4.6	Velikost systémových odchylek pro koncentraci 5,0 mmol/l	50
4.7	Velikost systémových odchylek pro koncentraci 15,0 mmol/l	51
4.8	Průměrné systémové odchylky	51

Seznam tabulek

4.1	Stanovené hodnoty koncentrací a vypočítaná hmotnost glukózy	38
4.2	Reálná navážka glukózy a odpovídající hodnoty koncentrací roztoků .	39
4.3	Naměřené hodnoty pro koncentraci 2,5 mmol/l	44
4.4	Naměřené hodnoty pro koncentraci 5,0 mmol/l	44
4.5	Naměřené hodnoty pro koncentraci 15,0 mmol/l	45
4.6	Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 2,5 mmol/l . .	47
4.7	Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 5,0 mmol/l . .	47
4.8	Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 15,0 mmol/l .	48

Úvod

Diabetes mellitus (DM) je jednou z nejčastějších civilizačních chorob lidstva a k roku 2019 postihuje již 18 % světové populace.[44] Toto metabolické onemocnění vede k nespočtu vážných komplikací, které reálně ohrožují život jedince. Z těchto důvodů diabetes vykazuje celosvětově vysokou úmrtnost.

Lze ho v závislosti na etiopatogenezi rozdělit na více typů. Diabetes 1. typu se převážně objevuje u lidí v mladistvém věku, kdy pro jeho kompenzaci je nutná dodávka inzulínu. Diabetes 2. typu se objevuje převážně až po 40. roce života a jeho vývoj není na inzulínu závislý. V porovnání s diabetem 1. typu je jeho výskyt častější. Postihuje téměř 90 % všech diabetiků.

DM je provázena řadou komplikací vyplývajících z vážných hypoglykemických a hyperglykemických stavů. Hypoglykemie je definovaná jako glykemie nižší než 3,3 mmol/l a považuje se za zásadní a život ohrožující stav diabetika, ale i zdravého člověka. Hyperglykemie je charakterizovaná jako zvýšená glykemie a souvisí s rozvojem akutních komplikací (ketoacidóza, hyperosmolární hyperglykemický stav).[3, 27]

Nedílnou součástí programu každého pacienta je tedy kontrola a kompenzace diabetického stavu. Kontrolu provádí lékař ve zdravotnickém zařízení pomocí přesných měřících přístrojů. Jelikož je nutné, aby byla glykemie sledovaná několikrát během dne, je kontrola svěřena pacientovi pomocí tzv. „selfmonitoringu“. Důležitou částí je však edukace pacienta v tomto oboru k minimalizaci vzniku systémových chyb.

Pacient využívá osobní glukometr a testovací proužky založené na elektrochemickém principu, kdy pomocí vystřelovacího pera a malé lancetky (jehličky) provede vpich do břicha prstu. Zjednodušeně, je krev nasátá do objemové komůrky testovacího proužku a poté vyhodnocena glukometrem, jako momentální koncentrace glukózy v krvi. Tímto způsobem pacient provádí jednoduchou kontrolu svého stavu. Důležitá je však zpětná vazba mezi pacientem a lékařem, pro optimální nastavení léčby.[41]

V závislosti na těchto skutečnostech je kladen velký důraz na vysokou přesnost měření a kvalitu osobních glukometrů, které před uvedením na trh podléhají řadě testování v akreditovaných laboratořích a musí splňovat kritéria daná normou ČSN ISO 15197.[26, 45]

Cílem bakalářské práce je otestovat glukometr dané značky na vhodném testovacím médiu a potvrdit či vyvrátit jeho měřicí přesnost a správnost.

1 Glukóza

Glukóza je organická sloučenina, kterou řadíme mezi sacharidy. Ty můžeme dle složitosti dělit na monosacharidy - jednoduché cukry, oligosacharidy (nejčastěji disacharidy) a polysacharidy.

Sacharidy představují důležitý zdroj energie. Pro člověka jsou nedílnou součástí potravy [11], ve které se vyskytují ve formě složitých struktur a trávicí soustavou jsou dále rozkládány na jednodušší monosacharidy.[31] Tvoří také podstatnou strukturní složku živých organismů (buněčné stěny u rostlin, buněčné membrány u živočichů) či součást pojiva. Mezi významné vlastnosti patří jejich rozlišovací funkce, jelikož dokáží rozeznat buněčné typy nebo imunogeny.[11]

Zásobní složku sacharidů u živočichů tvoří glykogen, který je součástí významných polysacharidů. U člověka je uložen především v játrech nebo svalech a při hladovění slouží jako náhradní zdroj glukózy. U rostlin je zásobní složkou významný polysacharid — škrob. Pro člověka představuje podstatný zdroj glukózy a je obsažen například v bramborách, kukuřici, obilovinách či v rýži. Je tvořen pouze molekulami D-glukózy a skládá se ze dvou polysacharidů — amylosy (asi 20 % škrobu) a amilopektinu, který tvoří jeho podstatnou část (asi 80 %).

Mezi další významné polysacharidy patří celulóza. Pro rostliny představuje nejrozšířenější polysacharid a slouží jako stavební prvek (stěny rostlinných buněk, podpůrná pletiva rostlin). Celulóza se skládá z velkého počtu glukózových podjednotek, jež vytváří dlouhé nevětvené řetězce. Pro člověka je zcela nestravitelná, tudíž pouze prochází trávicím traktem ve formě vlákniny, jejímž zdrojem v potravě je například ovoce, zelenina či celozrnné pečivo.[11]

Samotná glukóza se řadí mezi významné monosacharidy, tedy jednoduché cukry. V přírodě je označována jako D-glukóza, neboli hroznový cukr. Tvoří základní stavební složku glykogenu, škrobu a celulózy a vyznačuje se jako velmi rozšířený a důležitý cukr v biosféře. V potravě je obsažena v ovoci, nektaru či medu. Je nejdůležitější, nejrychlejší a velice podstatný zdroj energie pro tkáně a buňky lidského organismu, zejména pro mozek, nervy a erytrocyty, kde představuje jediný zdroj energie.[11, 29]

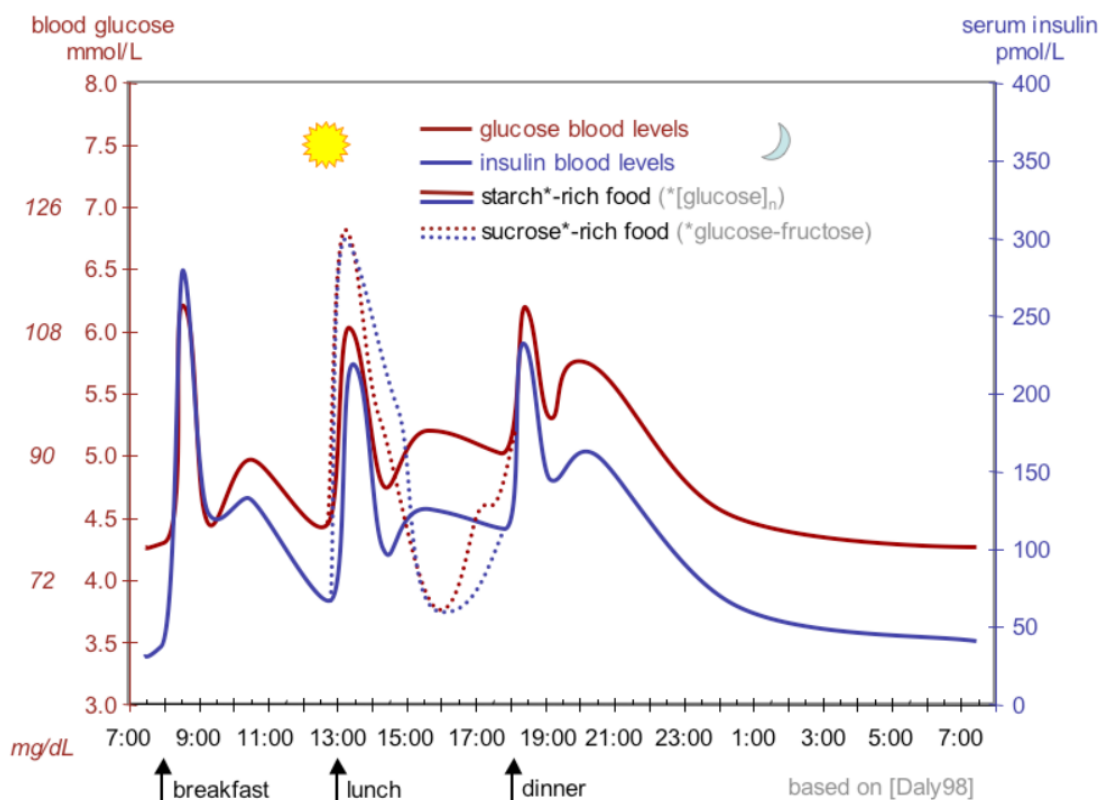
Další hojné využití glukózy, ve formě roztoků o různé koncentraci představuje zdravotnictví, kde je obsažena v řadě nitrožilních infuzí, nejběžněji jako 5% izotonický roztok s krevní plazmou.[11]

1.1 Metabolismus glukózy v těle

Látková výměna – metabolismus, je jedním z důležitých procesů získávání energie z potravy. Přijímat potravu a získávat z ní energii potřebuje každý živý jedinec

pro správné fungování organismu a udržení základních životních funkcí, tj. dýchání, srdeční činnost apod. Jelikož organismus nepřijímá energii z potravy stále, je potřeba zajistit úschovu energie v zásobní podobě a postupně ji uvolňovat.

První fáze metabolismu je fáze získávání energie. Jak bylo řečeno, energii tělo získává z glukózy, která je přijata potravou a následně vstřebána do jater a svalů. Nastává proces glykogeneze, kdy je přijatá glukóza ukládána v játrech a svaích ve formě zásobního glykogenu. Na rozdíl od mozku, který je závislý pouze na dodávce glukózy z krve, ostatní orgány jako jsou játra, svaly nebo tukové tkáně, potřebují pro vstup glukózy do buněk účinek hormonu inzulinu.[3] Inzulin je produkován v pankreatu β -bunčkami Langerhansových ostrůvků a mezi jeho hlavní úkoly patří snižovat hladinu glukózy v krvi.[11] Množství inzulinu, které se uvolní je regulováno glukózou. Při zvýšení hodnoty glykemie, zejména po jídle, dochází k uvolňování většího množství inzulinu, tím pádem ke zvýšenému průniku glukózy do buněk.[3] Graf vyřučování inzulinu v závislosti na příjmu potravy je zobrazen na obrázku 1.1



Obr. 1.1: Časové kolísání hladiny glukózy v krvi v závislosti na vylučování inzulinu během dne, převzato z [34]

Pokud dojde k degradaci β -buněk Langerhansových ostrůvků, nejsou již tyto buňky schopny inzulin tvořit nebo pouze nedochází k jeho tvorbě v dostatečné

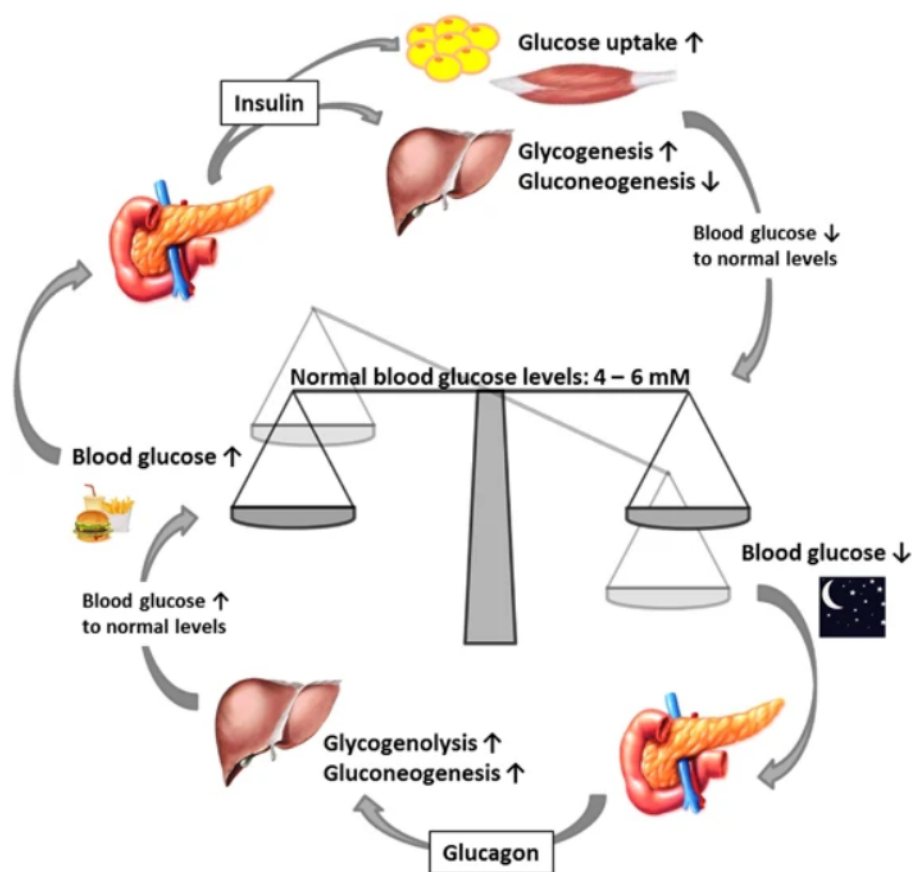
míře pro organismus. Tím pádem se nadbytečná glukóza hromadí v krvi, zvyšuje se její koncentrace a dochází k závažnému onemocnění – diabetes mellitus, česky „cukrovka“.[29]

V buňkách glukóza podléhá řadě metabolických přeměn, zejména odbourávání — glykolýza. Glykolýza probíhá v cytoplasmě všech buněk anaerobně (za nedostatku kyslíku) či aerobně (za přítomnosti kyslíku). Při fosforylačních reakcích, které probíhají jak aerobně, tak anaerobně, dochází ke spotřebování energie ATP. Vzniklý izomerovaný produkt glyceraldehyd-trifosfát je dále přeměňován, přičemž se redukuje pyridinový kofaktor NAD^+ na $\text{NADH} + \text{H}^+$ za vzniku 2ATP (dvě molekuly energie ATP).

Konečným produktem této reakce je pyruvát, jehož další přeměny se v rámci aerobní a anaerobní glykolýzy liší. Během obou glykolýz je též rozdílné využití NADH. V případě aerobní glykolýzy je pyruvát dále přeměňován na acetyl-CoA, kde tato přeměna představuje nevratný proces. Acetyl-CoA je poté odbourán v citrátovém cyklu (Krebsův cyklus) a NADH vzniklý oxidací je díky kyslíku reoxidován v dýchacím řetězci. Při anaerobní glykolýze je nedostatek kyslíku, tudíž NADH nemůže být reoxidován v dýchacím řetězci. Dochází k jeho nadbytku v buňkách a nastává jeho reoxidace „náhradním“ způsobem. NADH reaguje s pyruvátem a vzniká laktát. Za těchto podmínek je možné odbourat glukózu i za nedostatku kyslíku. Jelikož pyruvát není oxidován na acetyl-CoA, dochází k nedostatku energie, která je nahrazena způsobem, který se označuje jako tzv. práce na kyslíkový dluh, jež může probíhat pouze omezenou dobu. Po nahromadění laktátu v buňkách a při jeho následném odstraňování z tkání do jater (Coriho cyklus) po snížení fyzické aktivity, je opět přeměněn na pyruvát a NADH je opět reoxidován v dýchacím řetězci.[11]

Druhou fází látkové výměny je spotřebování energie. Nastává proces glykogenolýza, při kterém dochází ke spotřebě zásobního glykogenu z jater. Glykogen je zásobní sacharid živočichů a pokud tělo nestíhá glukózu spotřebovat, uloží ji právě v této formě.[29] Jelikož glukóza není hlavní složkou potravy, může být syntetizována z necukerných zdrojů jako je laktát, pyruvát nebo glycerol.[11] Tento proces označujeme jako nové vytvoření glukózy, tedy glukoneogeneze. Poté je glukóza zpět uvolněna do krevního oběhu a dopravena ke všem tělním buňkám.[3]

Zjednodušený proces metabolismu glukózy je zobrazen na obrázku č. 1.2.



Obr. 1.2: Vyrovnávání hladiny glukózy v krvi pomocí regulačních mechanismů, převzato z [39]

1.2 Glykemie

Glykemie je označení pro koncentraci glukózy v krvi a je nejčastěji sledovanou hodnotou při kontrole onemocnění diabetes mellitus. Koncentrace glukózy je nejvyšší v tepenní (arteriální) krvi a její hodnota bývá udávána v jednotkách mmol/l či mg/dL.[31]

U zdravého jedince je glykemie udržována řadou regulačních mechanismů a na lačno by neměla překračovat hodnoty 3,3 – 5,6 mmol/l. V případě tzv. postprandiální glykemie (po jídle), by měla její hodnota dosahovat maximálně 6,7 mmol/l.[3] U člověka s diabetem by hodnoty glykemie neměly na lačno přesáhnout hodnotu 7 mmol/l a po jídle 9 mmol/l.[29]

Tyto hodnoty jsou v krvi stále regulovány. Nejvýznamnější regulátor snižující hodnotu glykemie, je již zmíněný inzulin, který je tvořen ve slinivce břišní a jeho sekrece závisí na koncentraci glukózy v krvi (viz obrázek 1.1).[3, 29]

Mezi kontraregulační mechanismy, které hodnotu glykemie naopak zvyšují, patří

zejména glukagon, adrenalin, kortizon a růstový hormon. Další mechanismy, které mají za úkol regulovat fyziologickou koncentraci glukózy v krvi jsou játra.

Regulování hladiny glukózy v krvi je velice důležité, jak pro správnou funkci červených krvinek, tkání a buněk, tak i pro správnou funkci centrální nervové soustavy.[3]

S termínem glykemie se pojí také pojmy glykemický index a glykemický profil.

1.2.1 Glykemický index

Glykemický index je bezrozměrná veličina charakterizovaná jako rychlost nárůstu glykemie po konzumaci potravin s obsahem sacharidů. Každá potravina má svůj glykemický index. Pro diabetika je vhodné konzumovat potraviny s nízkou hodnotou glykemického indexu (rýže, tmavý chléb, aj.), jelikož hladina glukózy v krvi stoupá pomalu, do buněk přechází pozvolněji a nezpůsobuje vznik diabetických komplikací. Potraviny s vysokým glykemickým indexem (bílé pečivo, ovoce, aj.) způsobují rychlý nárůst glykemie.[38]

1.2.2 Glykemický profil

Glykemický profil je profil, který udává hodnoty glykemie pacienta v různou časovou dobu během dne. Měření nejčastěji probíhá 8× za 24 hodin, kdy se glykemie vyšetřuje nejen před snídaní, po obědě, před večeří, popřípadě před 2. večeří a před spaním, ale také kolem třetí hodiny ránní, kdy je nevyšší riziko hypoglykemie. Takto se označuje tzv. velký glykemický profil. Naopak pokud je glykémie měřena pouze na lačno, před hlavními jídly a před spaním, jedná se o tzv. malý glykemický profil.[3, 40]

1.2.3 Hypoglykemie

Hypoglykemie je definovaná jako glykemie u dospělého jedince nižší než 3,3 mmol/l. Vyznačuje se tedy nedostatkem glukózy v krvi a je to zcela nebezpečný stav jak pro zdravého člověka, tak pro diabetika.[29]

Hypoglykemie může být vyvolána nadměrnou dávkou inzulínu, nedostatkem kontraregulačních mechanismů, vrozenými vadami metabolismu či intoxikací návykovými látkami.[47]

Je provázena bolestmi hlavy, pocením, zrychleným pulsem, třesem rukou, slabostí, závratí nebo v těžkém případě až ztrátou vědomí.[3]

Při poklesu glykemie pod 3 mmol/l, je základní pomocí podat postiženému co nejrychleji glukózu, tak aby byla zajištěna normalizace hodnoty glykemie. Při běžné nezávažné hypoglykemii je pacient schopen si pomoci sám, perorálním příjmem

10 – 20 g rychle vstřebatelných sacharidů. Pokud se však jedná o závažnější hypoglykemický stav, je nutné glukózu podat nitrožilně. Z dlouhodobého hlediska může docházet až k poškození centrální nervové soustavy.[3, 27, 29]

1.2.4 Hyperglykemie

Hyperglykemie je stav, kdy hladina glukózy v krvi na lačno stoupá nad hodnotu 6,7 mmol/l. Glukóza se začne hromadit v krvi a pokud hodnota glykemie přesáhne hranici 10 mmol/l, dojde k překročení tzv. renálního (ledvinného) prahu a glukóza začne být uvolňována do moči. V tomto případě dochází k tzv. glykosurii, která může být znakem vzniklého onemocnění diabetes. Při výskytu glykosurie je možný výskyt diabetické ketoacidózy, jako důsledek nedostatku inzulínu a nadbytku kontraregulačních hormonů. Je nutné tedy provést testy také na tzv. ketonurii, kdy se objevuje zvýšený obsah ketolátek v moči. Glukóza, která je vylučována do moči, není schopna zásobit tělní buňky a organismus z ní nemůže získávat energii. Nastává proces spalování tuku (lypolýza), což vede ke zvýšené koncentraci mastných kyselin v plazmě. Dochází ke zpomalení Krebsova cyklu a spuštění β -oxidace. Organismus tedy získává energii z lypolýzy. V důsledku toho dochází ke zvýšení vylučování ketolátek do moči. V dechu postižených je také cítit silný zápach acetonu. Tato vyšetření patří mezi podstatná při prokázání diabetes mellitus.[3, 11, 27, 29, 38]

Mezi časté spouštěče hyperglykemického stavu patří nedostatečná dávka inzulínu či jeho úplná absence, nadměrná konzumace sacharidů v potravě nebo dlouhodobý stres.[3] Další příčinou tohoto stavu může být prodělaná cévní mozková příhoda či sekundární vlivy spojené s užíváním některých léků, například steroidů.[47] Nejčastější projevy hyperglykémie jsou známky dehydratace, časté močení, pocity žízně, nauzea, zvracení či prohloubené (Kussmaulovo) dýchání.[11, 29, 38]

1.3 Diabetes mellitus

Diabetes mellitus, patří mezi nejčastější a nejzávažnější metabolické onemocnění, které se vyznačuje abnormální tolerancí glukózy.[31] Jedná se o chronické onemocnění provázené hyperglykemií v důsledku absolutního či relativního nedostatku inzulínu.[27] Vzniká v důsledku degradace pankreatických β -buněk, kdy je znemožněna tvorba hormonu inzulínu. Z tohoto důvodu nemůže glukóza pronikat do buněk, hromadí se v krvi, čímž dojde ke zvýšení její koncentrace a následkem toho ke vzniku tohoto onemocnění.[10]

Za posledních 10 let se počet nemocných navýšil o více než 10 %, v roce 2007 bylo nemocných přibližně 7 % ze světové populace[1], zatímco k roku 2019 je to již 18 %.[44]

Diabetes postihuje všechny věkové kategorie a je provázen nemocemi, díky kterým se řadí mezi první tři nejzávažnější onemocnění způsobující vážné klinické komplikace a v nejhorším případě smrt.[31] Navzdory závažnosti tohoto onemocnění však nejméně třetina diabetiků není diagnostikována a u více než 20 % diabetiků se vyskytují pokročilá onemocnění.[31, 38]

Komplikace způsobené diabetem můžeme rozdělit na *akutní* a *chronické*. Akutní stav diabetu se projevuje zejména jako hyperglykemické kóma. Z dlouhodobého hlediska dochází k poškození a dysfunkci důležitých orgánů, jako jsou ledviny, nervy, cévy či srdce. Mezi chronické projevy diabetu můžeme zařadit specifické mikrovaskulární komplikace, tedy diabetickou nefropatii, retinopatii a neuropatii. Nespecifické komplikace pak můžeme charakterizovat jako infekční onemocnění či jiné komplikace.[10]

Diabetes lze diagnostikovat na základě přítomnosti klasických příznaků diabetu či pokud po náhodném stanovení glykemie během dne je výsledná hodnota $\geq 11,1$ mmol/l. Dalším způsobem je ranní odběr krve (na lačno), kdy hodnota glykemie je v případě diabetu ≥ 7 mmol/l. Pro vyloučení tohoto onemocnění se také využívá orální glukózový toleranční test (oGTT), který spočívá v podání 75 g glukózy rozpuštěné v nápoji. Na základě toho se zkoumá glykemie ve 120. minutě po oGTT. Za pozitivní výsledek považujeme hodnotu $\geq 11,1$ mmol/l. Pokud jsou hodnoty v rozmezí 7,8 – 11,0 mmol/l, jedná se o porušenou glukózovou toleranci, která může později vést ke vzniku diabetu. Stejně tak v případě stanovení glykemie na lačno, kdy jsou hodnoty v rozmezí 5,6 – 6,9 mmol/l.[27, 38]

Diabetes není pouze jednotné onemocnění, ale lze ho na základě příčin rozdělit do více skupin.[38]

1.3.1 Diabetes mellitus 1. typu (DM1T)

Někdy tento typ diabetu bývá označován jako IDDM, neboli diabetes mellitus závislý na inzulinu.[3] Optimální kompenzace je tedy dosažena podáváním inzulinu, kdy je diabetikovi toho typu sestaven plán, který obsahuje jednotlivé injekce inzulinu podávané během každých 24 hodin. Inzulinový plán je nastaven vždy individuálně v závislosti na stavu a způsobu života pacienta.[40]

Tento typ diabetu podléhá různým autoimunitním onemocněním, kdy si organismus tvoří protilátky, které postupně likvidují β -buňky. Tyto buňky pak již nejsou schopny produkovat inzulin a dochází tak k jeho úplné absenci.[33] Toto autoimunitní onemocnění může být vyvolané vlivem špatného životního prostředí, a to buď virově nebo chemicky, častěji u jedinců s predispozicí k diabetu.

DM1T postihuje téměř 10 % diabetiků, nejčastěji převážně mladé lidi v období puberty. Odtud také plyne dříve používaný název – juvenilní.[31, 38]

Ve spojení s tímto typem diabetu je popisován tzv. LADA (latent autoimmune diabetes of adults), který se objevuje spíše vzácně, a to u lidí v dospělém věku s pozvolným nástupem.[25]

1.3.2 Diabetes mellitus 2. typu (DM2T)

Diabetes mellitus 2. typu – NIDDM, neboli diabetes mellitus nezávislý na inzulinu, je komplexní metabolický syndrom, který se vyskytuje u téměř 90 % nemocných. Organismus není schopen fyziologicky zpracovat glukózu v důsledku relativního nedostatku inzulinu a současné inzulinové rezistence, způsobené buď snížením počtu receptorů či postrecepční bloádou. V případě tohoto typu diabetu se jedná o relativní nedostatek inzulinu, kdy v kombinaci s obezitou dochází k postupné degradaci β -buněk a následnému vzniku absolutního nedostatku inzulinu.[3, 27, 38]

Tento typ diabetu se nejčastěji projevuje u starších lidí po 40. roce života, kdy hraje velkou roli v propuknutí nemoci kromě dědičnosti i kvalita života jedince a jeho stravování. Běžně postihuje lidi, kteří konzumují mnoho tučných jídel, sacharidů a jejich fyzická aktivita je téměř nulová. Proto jsou tito lidé často obézní.[3, 7]

Stanovení správné kompenzace diabetu tohoto typu je ve většině případů složitá. U více než 80 % nemocných je na prvním místě podstatné snížit tělesnou hmotnost, zejména kvůli minimalizaci vzniku kardiovaskulárních chorob. Optimalizace léčby je především založena na podávání perorálních antidiabetik (PAD), které zvyšují vylučování inzulinu.[27, 40]

1.3.3 MODY - Maturity Onset Diabetes of the Young

Tento typ diabetu se projevuje převážně v mladistvém věku, kdy je způsoben poruchou funkce genu. Jedná se tedy o autozomálně dominantně dědičné onemocnění způsobující dysfunkcí vedoucí k poruše sekrece inzulinu.[25]

1.3.4 Gestační Diabetes mellitus

Mezi další typy diabetu patří gestační diabetes, který se projevuje u žen během těhotenství. Ačkoliv obvykle po porodu odezní, ve více než polovině případů přechází v diabetes mellitus 2. typu.[31] K roku 2018 se gestační diabetes vyskytoval téměř u 17 % všech těhotných žen.[28]

2 Měření glukózy v krvi

2.1 Způsob měření glukózy v krvi

Monitorování glykemie, tedy měření koncentrace glukózy v krvi je nedílnou součástí péče o pacienta vedoucí ke kompenzaci diabetu. Spočívá ve sledování glykemie v průběhu dne – na lačno, před jídlem a po jídle. Pravidelnou kontrolou stavu diabetika se předchází vzniku hyperglykemie nebo hypoglykemie, které mohou vést ke vzniku závažných komplikací spojených s diabetem.

Kontrolu glykemie provádí lékařský personál ve zdravotnickém zařízení pomocí diagnostické techniky – analyzátorů a glukometrů. Toto vyšetření označujeme jako POCT – Point of Care Testing. Jako ukazatel dynamických změn glykemie slouží systém kontinuální monitorace glykemie (CGM).[40]

Mezi další důležité vyšetření, které provádí lékař či zdravotnický personál patří také laboratorní stanovení glykovaného hemoglobinu (HbA1c) z žilní krve, který je základním ukazatelem optimálně nastavené léčby diabetu z dlouhodobého hlediska.[5] Stanovení hladiny glukózy v krvi v laboratorních podmínkách pracuje na principu tzv. mokré chemie a patří k nejpřesnějším metodám stanovení glykemie.[45]

Glykemii diabetika je nutné sledovat několikrát během dne. Z tohoto důvodu není možné, aby veškeré vyšetření prováděl pouze lékař, a tak je kontrola glykemie svěřena pacientovi. Domácí sebe testování, neboli tzv. „selfmonitoring“ se provádí pomocí osobních glukometrů a testovacích proužků.[5] Dnes patří k nepostradatelným ukazatelům glykemie, jelikož umožňuje získat okamžitou hodnotu a sledovat její změny před jídlem, po jídle či po fyzické aktivitě. Je velice důležité, aby pacient prováděl měření pravidelně a vyhnul se řadě možných komplikací, zejména hrozícímu riziku těžké hypoglykemie nebo naopak hyperglykemie. Než se začne pacient samostatně testovat, je nutná jeho edukace v oboru o správném použití testovacích přístrojů, správných hodnotách glykémie, a jak v rámci naměřených hodnot reagovat a upravovat množství podaného inzulinu či složení přijaté potravy.[33, 40, 46]

Důležitou součástí je zpětná vazba, kterou v rámci léčby podává pacient svému lékaři. Jedině tak je zajištěna spolehlivost této metody.[13, 45]

2.2 Biosenzory

Biosenzor je obecně označován jako komplexní a analytický přístroj, který spojuje biologické, chemické a elektrické součásti a je schopen převádět biologickou odpověď na měřitelný a zpracovatelný signál.[21, 24] Součástí biosenzoru je citlivá biologická složka, která přímo naléhá na fyzikálně chemický převodník nebo je v jeho těsném kontaktu.[42]

Jeho vstupní – rekogniční část obsahuje specifické receptory, jež se vážou na analyt (detekovaná látka). Tato látka je během reakce přeměňována nebo se na ni receptory váží a vytváří určitý komplex. Biosenzor je tedy opatřen speciální řídicí membránou, na které po nanesení biologicky citlivého vzorku dochází k převodu biologického prostředí na prostředí fyzikální. Činnost této membrány funguje na principu selektivní reakce, kdy určitým způsobem „filtruje“ přichozí látky a zabráňuje vstupu cizím látkám, které by mohly způsobit nežádoucí funkci senzoru. Lze si tedy membránu představit jako síť molekul, které jsou schopny reagovat s dalšími molekulami a produkovat detekovatelné elektrony, ionty, světlo, teplo atd.[24] Toto rozhraní dává vznik signálu, který je dále zachycen fyzikálně-chemickým převodníkem a elektronicky zpracován.[21]

Tento princip biosenzoru jako komplexního systému je zjednodušeně zobrazen na obrázku 2.1.



Obr. 2.1: Biosenzor jako komplexní systém, upraveno z [24]

Látku, která je tímto systémem detekována si lze dle obrázku představit jako určitý objekt, který svým tvarem zapadá do tvaru membrány – receptoru. Tento receptor – enzym (nejčastěji využívaný), nukleová kyselina, buňka či protilátka[21], převádí biologický vzorek reagující s receptorem na kvantifikovatelný signál.

Z lékařského hlediska jsou nejdůležitější glukózové biosenzory, které detekují enzymy oxidu glukózy.[24] Základním faktorem pro vývoj těchto systému je nutnost rychlé a efektivní kontroly hladiny glykemie u lidí s diabetem.[42] Biosenzory můžeme rozdělit podle biorekogniční složky nebo podle typu fyzikálně-chemického převodníku.

Podle biorekogniční složky jsou to:

- biokatalytické – enzym, organela, buňka, tkáň, orgán, organismus aj.,
- bioafinitní – lektin, protilátka, nukleová kyselina, receptor apod.

Podle typu fyzikálně-chemického převodníku:

- elektrochemické (potenciometrie, konduktometrie, voltametrie, amperometrie),
- optické (fotometrie, fluorimetrie, huminometrie, nelineární optika),
- piezoelektrické a akustické,
- kalorimetrické.

Na vlastnosti biosenzorů je kladen velký důraz. Mimo obecné požadavky (velká citlivost senzoru, velká přesnost, časová stálost, vysoká spolehlivost, nízké náklady, jednoduchá obsluha a jiné) je důležitá vhodná závislost výstupní veličiny na měřené veličině a vhodný průběh základních statických a dynamických vlastností. Statické vlastnosti senzoru popisují chování senzoru v ustáleném konstantním čase. Řadíme mezi ně například statickou přenosovou charakteristiku, linearitu, citlivost, dynamický rozsah, hysterezi nebo rozlišení. Typické dynamické vlastnosti jsou přechodová a frekvenční charakteristika.[42, 53]

Jednou z nejdůležitějších statických charakteristik je statická přenosová funkce (kalibrační křivka), která znázorňuje funkční vztah mezi vstupním a výstupním signálem.[43] Tento vztah je obvykle znázorněn grafem, který tento obecný vztah reprezentuje.[50] Vztah mezi měřenou veličinou (x) a výstupní veličinou (y) je popsán obecnou funkcí:

$$y = f(x) \quad (2.1)$$

Tento vztah lze také popsat obecně podle tvaru:

$$y = (a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot x^2 + \dots + a_n \cdot x^n) \cdot x \quad (2.2)$$

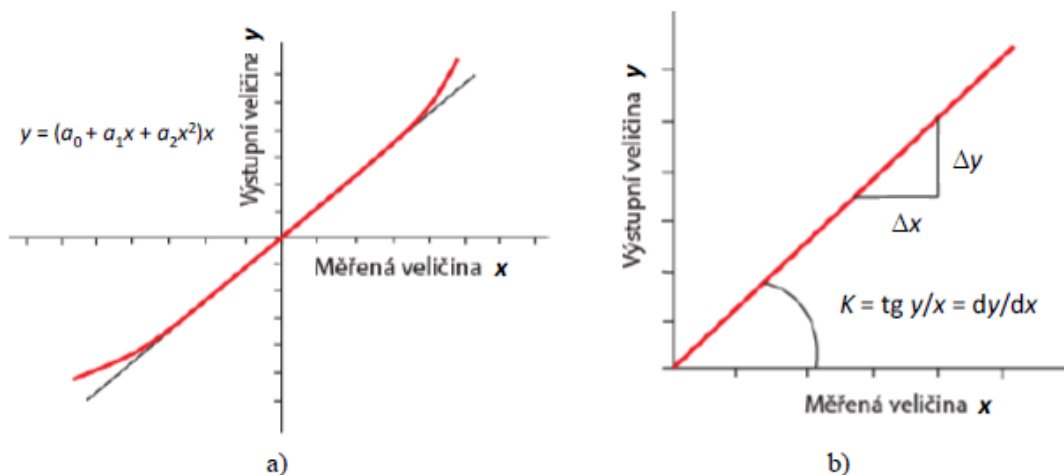
kde $a_0, a_1, a_2 \dots a_n$ jsou konstanty.

Z této rovnice lze při určitém počtu členů odvodit statické přenosové charakteristiky, viz obr. 2.2 (na straně 22).

Žádanou a potřebnou veličinou je lineární závislost statické přenosové charakteristiky, která udává nejnížší možnou změřitelnou hodnotu detekovatelnou senzorem. Obecně ji můžeme popsat vztahem (2.3).

$$y = a_0 \cdot x \quad (2.3)$$

Linearita senzoru udává maximální odchylku kalibračního bodu od bodu, který leží na ideální přímce statické přenosové charakteristiky. Je také vyjádřena jako



Obr. 2.2: Příklad statické přenosové charakteristiky a) ideální tvar charakteristiky, funkce $y = a_0 \cdot x$ (černě) a funkce $y = (a_0 + a_1 \cdot x + a_2 \cdot x^2) \cdot x$ (červeně); b) vyjádření citlivosti podle sklonu charakteristiky, převzato z [43]

přesnost reálné kalibrační křivky s ideálním tvarem přímky statické přenosové charakteristiky. Chyba linearit je udávána v procentech a její vztah je dán rovnicí (2.4).[43]

$$L_e = \frac{\Delta y_{max}}{plný\ rozsah} \quad (2.4)$$

Nastane-li v některém případě nelinearita této charakteristiky, lze ji například nahradit přímkovým úsekem pomocí kalibračních bodů.[43]

Dalším důležitým parametrem je senzitivita (citlivost K), která je obecně definovaná jako malá změna výstupního signálu k malé změně vstupního signálu.[50] Možno ji definovat jako sklon statické přenosové charakteristiky, kdy v ideálním případě nabývá hodnoty a_0 . Její vztah je vyjádřen rovnicí (2.5).

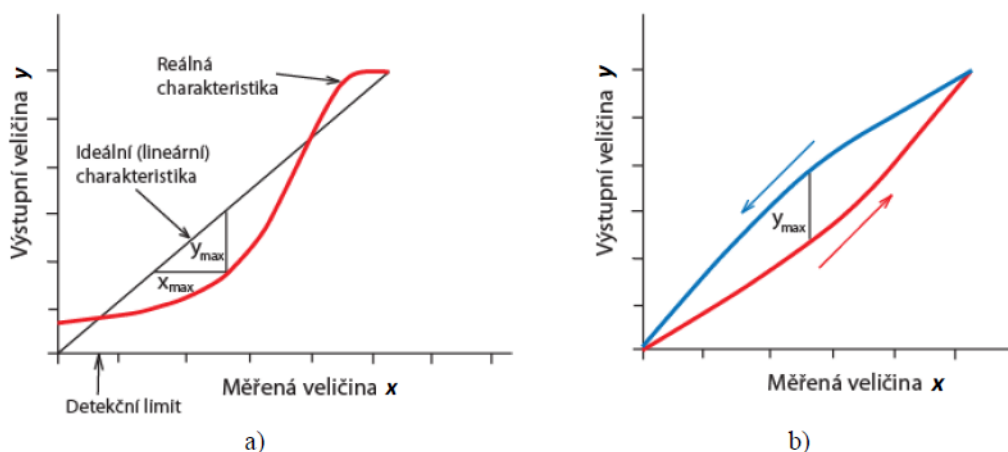
$$K = a_0 = \frac{\Delta y}{\Delta x} \quad (2.5)$$

Dynamický rozsah (rozpětí) je definován jako interval mezi dolním a horním měřicím rozsahem, tj. mezi prahem citlivosti a plným rozsahem.[23] Pokud signály překročí ohraničenou mez, může docházet k irelevantním nepřesnostem.[50]

Hystereze je označována jako vliv předchozích měření ovlivňující tvar signálu. Lze ji rozeznat podle tvaru kalibrační křivky, kde vykazuje buď konkávní nebo konvexní tvar. V ideálním případě by měla nabývat nulových hodnot.[42] Možno ji definovat jako maximální rozdíl výstupu měřeného rozsahu, kdy je hodnota měřená nejdříve při zvyšování a poté při snižování veličiny.

Hysterezní chyba je udávána v procentech a její vztah je vyjádřen rovnicí (2.6). [43]

$$H_e = \frac{\Delta H}{\text{plný rozsah}} \quad (2.6)$$



Obr. 2.3: Statické parametry senzorů a) kalibrační křivka (ideální charakteristika); b) hysterezní křivka, převzato z [23]

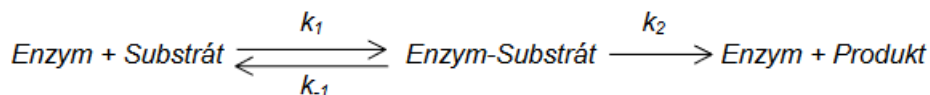
Rozlišení senzoru je definované jako minimální výstup senzoru, který je senzor ještě schopen zaznamenat. Jeho hodnota odpovídá absolutní či relativní chybě senzoru.

Dynamické vlastnosti patří mezi parametry, jejichž hodnota měřené veličiny je v čase proměnná. Dynamické chování lze ve většině případů popsat lineární diferenciální rovnicí s konstantními koeficienty, avšak pokud tento způsob není možný, lze nelineární rovnici po částech linearizovat a dynamické změny sledovat v těchto částech. Tyto vlastnosti lze vyjádřit pomocí frekvenční charakteristiky (přenosové funkce) či přechodové charakteristiky. Frekvenční charakteristika, resp. přenosová funkce je definovaná jako závislost přenosu a fázového úhlu na frekvenci, tedy rozdíl amplitudy a fáze vstupního signálu oproti vstupnímu signálu v závislosti na frekvenci. Přechodová charakteristika vyjadřuje průběh výstupní veličiny signálu v závislosti na čase při skokové změně vstupní veličiny. [12]

Mezi další nepostradatelné parametry patří také reprodukovatelnost (opakovatelnost měření) doba odezvy senzoru, životnost nebo selektivita. Je však nutné u každého typu senzoru samostatně hodnotit vhodnost použití pro daný typ a aplikaci. [12, 23]

2.2.1 Elektrochemické biosenzory

Elektrochemické biosenzory patří k nejvyužívanějším typům, zejména ty, založené na enzymatických reakcích, tzv. enzymové biosenzory. Rekogničním elementem těchto senzorů je enzym – bílkovina, která je schopna přeměnit substrát na produkt. Tuto přeměnu lze popsat pomocí následujícího schématu 2.4 (převzato z [42]):



Obr. 2.4: Rovnice Michaelise-Mentové - přeměna substrátu na produkt

Podle této rovnice lze odvodit rychlost vzniku produktu:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

kde V_{max} je maximální rychlost při saturaci enzymu substrátem a kde $K_m = \frac{k_1+k_2}{k_1}$ představuje Michaelisovu konstantu. Dále platí

$$V_{max} = k_2[E]$$

Odezvu enzymových biosenzorů lze popsat pomocí stejné rovnice, ale pouze místo rychlosti saturace je nutno použít maximální velikost měřeného signálu, kdy je snahou udržet nižší koncentraci substrátu než K_m . V tomto případě je odezva lineární v závislosti na koncentraci substrátu a lze tak $[S]$, pro $[S] \ll K_m$, ze jmenovatele vypustit. Avšak při imobilizaci enzymů dochází ke změně konstanty K_m , tudíž lze určit pouze její přibližnou hodnotu.[42]

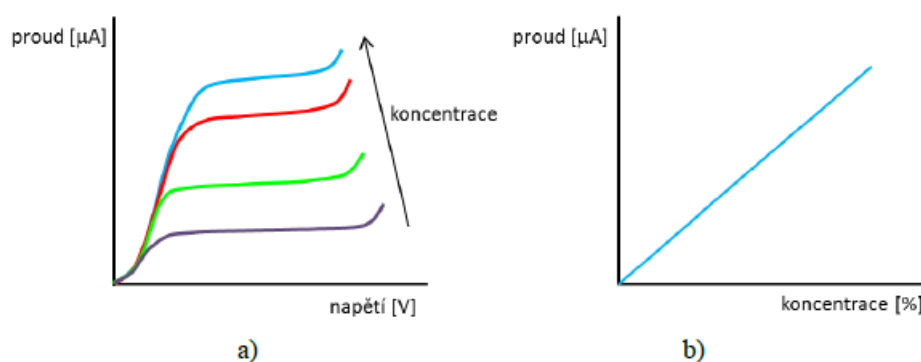
Hlavní výhodou těchto systémů je jejich jednoduchá konstrukce, vysoká senzitivita a nízké pořizovací náklady. Pro sestavení takového měřicího systému jsou potřeba minimálně dvě měřící elektrodové komponenty, a to pracovní (měřící, snímací) a referenční elektroda. Důležitou součástí je také elektroda pomocná, která musí být elektrochemicky neaktivní a tvořena vodičem (např. platina ve formě drátku, nerezový drát aj.) s dostatečně velkou plochou. Referenční elektroda je využívána pro nastavování (měření) potenciálu pracovní elektrody, respektive slouží jako srovnávací zařízení.[21, 42] Je často vyráběna ze stříbra či chloridu stříbrného a její vzdálenost od místa reakce je taková, aby potenciál zůstal dostatečně stabilní. Mezi požadované vlastnosti těchto elektrod patří především vodivost a chemická stabilita.[21]

Potenciometrické biosenzory jsou založeny na změně potenciálu vyvolané akumulací náboje v místě rozhraní s elektrodou a analytem. Vzhledem k jejich vysoké impedanci, je procházející proud velmi malý.[23] Nejznámějšími jsou převážně

enzymové elektrody, kde jako převodník slouží iontově selektivní elektroda (ISE) v kombinaci s enzymovou vrstvou,[42] tzn., že potenciometrie poskytuje informace o aktivitě iontů v elektrochemické reakci.[21]

Konduktometrické biosenzory jsou založeny na sledování změn vodivosti v důsledku enzymatických reakcí. Změny vodivosti závisí na produkci či spotřebě iontů či např. změně velikosti nabitých částic.[21, 42]

Amperometrické biosenzory jsou biosenzory, kde proud vzniká oxidačními nebo redukčními biochemickými reakcemi a je nepřetržitě měřen pracovní elektrodou při konstantním potenciálu. Konstantní potenciál je zajištěn referenční elektrodou a je zcela nezávislý na procházejícím proudu mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Na konstantní úrovni je udržován pomocí potenciostatu, který mění potenciál pomocí referenční elektrody. [23] Hodnota výsledného proudu je pak rovna koncentraci stanovené látky. [21, 42]



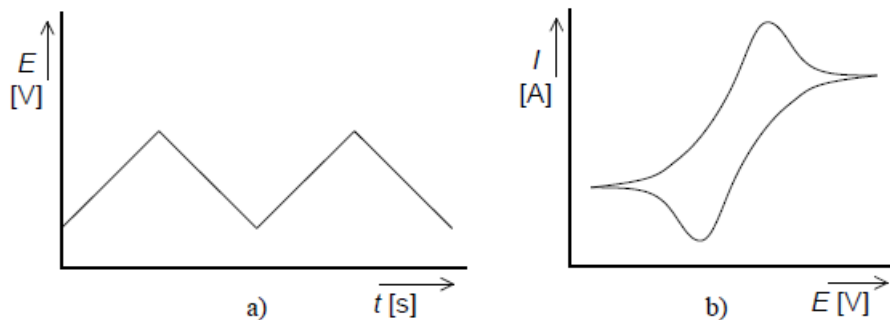
Obr. 2.5: Typické charakteristiky amperometrického senzoru a) změna voltampérové charakteristiky s koncentrací; b) závislost proudu na koncentraci, převzato z [23]

Mezi amperometrické techniky patří voltametrie, při které se informace o stanoveném analytu získává neustálou změnou potenciálu a jeho následným měřením. Nejrozšířenější formou získávání informace o potenciálu a rychlosti elektrochemické reakce je cyklická voltametrie. V tomto případě je proud I lineárně závislý na rostoucím potenciálu E . Výsledky měření jsou zobrazeny grafem, tzv. voltamogramem, který je zobrazen na obrázku 2.6 [21, 23].

Nejznámějším a celosvětově nejvyužívanějším zařízením je glukózový biosenzor, jehož funkce je založena na amperometrické detekci peroxidu vodíku.[21]

2.2.2 Glukózové biosenzory

Nejčastěji monitorovanou látkou pomocí biosenzorů je glukóza. Stanovení její koncentrace je důležité například při kontrole stavu diabetických pacientů, kteří si



Obr. 2.6: Cyklická voltametrie; a) časový průběh vkládaného potenciálu; b) příklad výsledného voltamogramu, převzato z [23]

díky tomu mohou upravit dávkování inzulínu a předcházet tak možným komplikacím spojených s diabetem [42, 50]. Současné glukózové biosenzory pracují na elektrochemickém principu, z nichž jsou nejpoužívanější enzymatické amperometrické biosenzory.[52]

Tyto biosenzory jsou založeny na enzymové oxidaci glukózy. Nejběžněji využívané enzymy jsou glukózooxidáza (GO_x), glukózodehydrogenáza s pyrrolchinolin-chinonovým koenzymem (PQQ-GDH) a hexokináza. Hexokináza je využívána jako enzym při hexokinázovém referenčním testu pro měření glukózy spektrofotometrií v laboratorních prostředích.[41, 52].

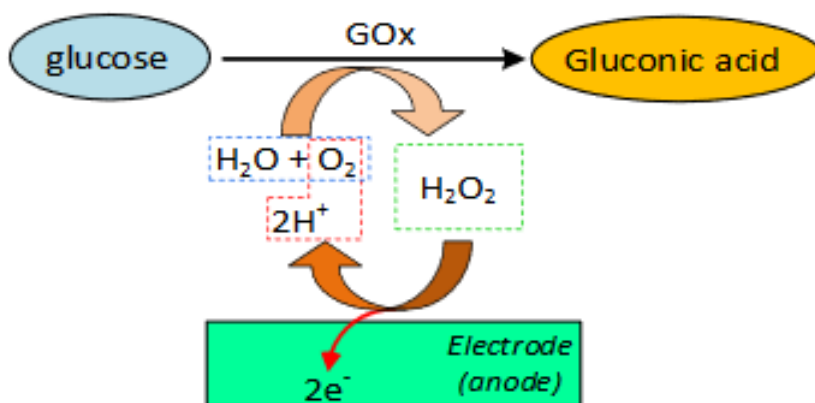
Enzymy GO_x a GDH byly prvotně izolovány z mikroorganismů *Aspergillus niger* a *Acinetobacter calcoaceticus*. Poté byly nahrazeny enzymy produkované jinými organismy kvůli zvýšení aktivity, výtěžnosti a specifity enzymu. Tyto enzymy jsou odlišné svými redoxními potenciály, silou vazby, kosubstráty, Michaelisovou konstantou a selektivitou vůči glukóze.[41] Biosenzory používané při „selfmonitoringu“ glykemického stavu využívají již zmíněné enzymy GO_x a GDH. Glukózooxidáza je standardem pro biosenzory vzhledem k vyšší citlivosti (selektivitě) pro glukózu. Je odolná vůči vysokým pH, iontovým silám a teplotě, což umožňuje snadné skladování. Princip je založen na oxidační reakci glukózy a kyslíku [13], který funguje jako akceptor elektronů. GO_x katalyzuje oxidaci glukózy s kyslíkem za vzniku kyseliny glukonové a peroxidu vodíku. Aby glukózooxidáza fungovala jako katalyzátor, je nutné využít koenzym FAD^+ (flavinadenindinukleotid), který je následně redukován na $FADH_2$. Tento princip je zobrazen pomocí rovnice (2.7).[52]



Kofaktor FAD^+ následně reaguje s kyslíkem za vzniku peroxidu vodíku. Tento vztah můžeme vyjádřit rovnicí (2.8).[52]



H_2O_2 (peroxid vodíku) je oxidován na katalytické elektrodě, kdy tato elektroda rozpozná počet přenášených elektronů. Ztráta elektronů a pokles pO_2 (parciální tlak) elektrody je přímo úměrný počtu molekul glukózy, tedy její koncentraci v krvi.[48] Tento proces lze zobrazit pomocí rovnice (2.9).[52]

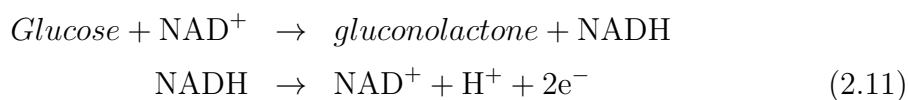


Obr. 2.7: Enzymaticko-amperometrická metoda pro měření koncentrace glukózy in-vitro, převzato z [48]

Druhým používaným enzymem při novější elektrochemické metodě je glukózo-dehydrogenáza. Tento enzym katalyzuje mimo oxidaci glukózy také jiné sacharidy, například maltózu. Zahrnuje GDH-pyrroloquinolinequinon (PQQ), využívaný jako kofaktor a GDH-nikotinamidadenindinukleotid (NAD), zobrazený v rovnici 2.10 [52].



Při této reakci není potřebný kyslík ani NAD^+ . PQQ je enzymový systém, který velkou rychlostí přenáší elektrony. Pokud je jako kofaktor použit NAD, ve spojení s GDH neprodukuje peroxid vodíku, ale redukovanou formu NADH dehydrogenázu, jež může být elektrochemicky oxidována. Během oxidace glukózy NAD^+ přijímá vodíkový ion a dva elektrony. Reakce je zobrazena pomocí rovnice (2.11).[52]



Při této reakci glukózy s NAD^+ vzniká NADH, který odpovídá koncentraci glukózy.[5]

2.3 Testovací proužky

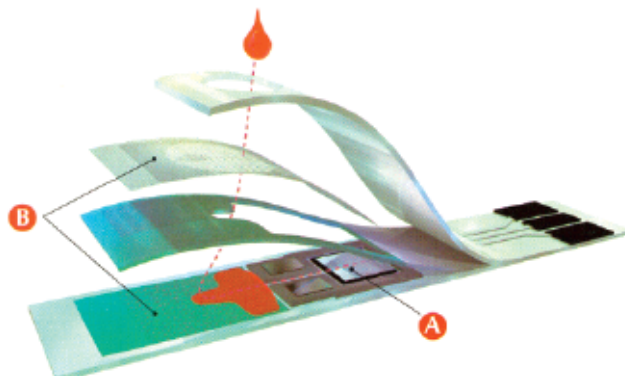
Osobní glukometry využívají detekční testovací proužky, které společně s glukometrem slouží k vyhodnocení hladiny glukózy v krvi. Domácím testování je založeno na elektrochemickém-amperometrickém principu. Vzhledem k tomu, že domácí testovací přístroje používá diabetik denně, je kladen velký důraz na jejich vysokou kvalitu.[49]

Osobní glukometry využívají proužky na jedno použití. Tyto proužky mají elektrochemickou komůrku o malém objemu, která slouží pro nasátí tekutiny pomocí kapilárních sil. Samotný proužek obsahuje plastovou destičku, minimálně dvě elektrody a chemické složky, zejména enzymy, stabilizátory a povrchově aktivní látky potřebné převážně pro minimalizaci času k naplnění komůrky. Počet elektrod se liší v závislosti na účelu měření. Využity mohou být dvě stejné elektrody či jedna elektroda pracovní a druhá referenční. Možné je také použití tří elektrod, kde třetí elektroda představuje elektrodu pracovní.[41]

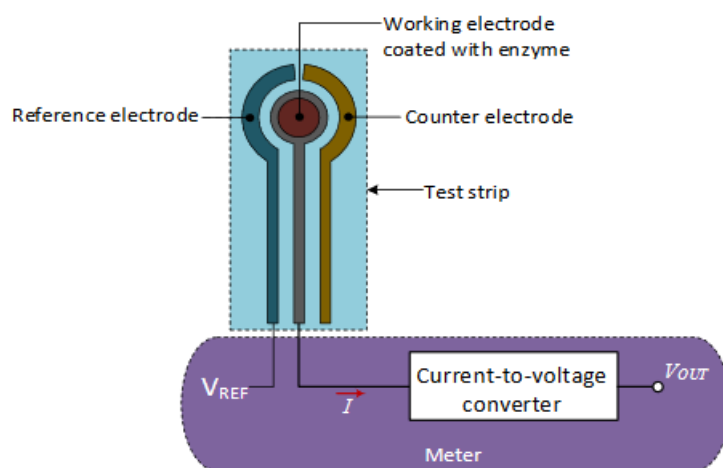
Vrstvy biosenzoru, které poskytují snadno kvantifikovatelný signál, jsou v dnešní době založeny na řadě technologických postupů z oblasti sítotisku. Tato sítotisková technika (thick film technology) je založena na tvorbě různých geometrických tvarů vyrobených na plastovém či keramickém podkladu nanášením vhodných past tiskem přes tzv. síta. Tato síťová vrstva je dále upravována a přizpůsobována dalším nanášeným vrstvám. Testovací proužky používané pro detekci hladiny glukózy jsou tedy enzymové sítotiskové elektrody, vhodné pouze na jedno použití (měření). Tyto proužky jsou vyrobeny jednoduchým tlustovrstvým filmem (sítotisk) metodou mikrofabricace či depozice (nanášení materiálu na podložku). Jednotlivý proužek je opatřen tištěnými pracovními a referenčními elektrodami, jenž jsou potaženy potřebnými činidly (enzymy, mediátory, povrchově aktivní látky, aj.) a membránami, které jsou využívány k rovnoměrnému pokrytí vzorků a oddělení krevních buněk. Činidla již nejsou žádným způsobem upravována a jsou uložena v suché formě.[49]

Pracovní elektroda je vyrobena sítotiskem uhlíkového inkoustu, který je tvořen směsí uhlíkových částic nebo vakuovým napařováním zlata či paladia. Referenční elektroda je nejčastěji chloridostříbrná, vyrobená sítotiskem inkoustu obsahující částice stříbra a AgCl v polyesterovém pojivu. Dalším druhem referenční elektrody je elektroda inertní, vyrobená na stejném principu jako elektroda pracovní. Některé glukometry využívají také proužky vyřezávané laserem, což umožňuje výrobu velmi přesně vyměřeného povrchu pro detekci.[41]

Měření pomocí glukometrů je tedy založeno na tzv. suché chemii. Toto měření je považováno za nejvhodnější a velmi rychlé, ale musí být brána v potaz snížená míra přesnosti a možnost ovlivnění cizími látkami.[45]



Obr. 2.8: Jednotlivé vrstvy testovacího proužku pro domácí měření krevní glukózy; (A) elektrodový systém; (B) hydrofobní vrstva (místo pro nanesení krevního vzorku), převzato z [49]



Obr. 2.9: Blokové schéma zařízení pro měření glukózy z prstu, převzato z [48]

3 Osobní glukometry

Osobní glukometr můžeme charakterizovat jako malé přenosné „kapesní“ zařízení, které je schopno v rámci domácího měření rychle změřit a vyhodnotit hladinu glukózy v krvi z kapky krve a předcházet tak vzniku možných rizik spojených s diabetem, zejména hypoglykémii a hyperglykémii. Zjednodušeně je glukometr malé elektronické zařízení, které pomocí elektrochemické reakce převádí signál na digitální hodnotu, která je posléze zobrazena na displeji. Nabídka těchto osobních přístrojů je v dnešní době relativně na vysoké úrovni a oponuje širokou škálou provedení, ale i technických možností.[13, 33, 45] Důležitou součástí správného používání glukometru je množství krve nanesené na testovací proužek. V 60. letech, kdy kvalita glukometrů nebyla na vysoké úrovni, bylo potřeba přibližně 100 μl ke stanovení koncentrace glukózy.[5] Současné přístroje disponují potřebným objemem pouhých 0,3 – 10 μl . Měřicí rozsah je nejčastěji 1,1 – 33 mmol/l.[13, 45] Rychlost měření se pak pohybuje v rozmezí od 5 do 15 sekund.[40]

Většina glukometrů v dnešní době již pracuje na principu elektrochemické reakce. Jsou napájeny pomocí knoflíkových či tužkových baterií s kapacitou okolo 50 - 500 měření na glukometr. K zajištění přesnosti měření je nezbytné nastavit kódování glukometru podle konkrétní šarže testovacích proužků. Většina moderních zařízení však dokáže glukometr automaticky zajistit, tudíž není potřeba zadávat příslušný kód.[13]

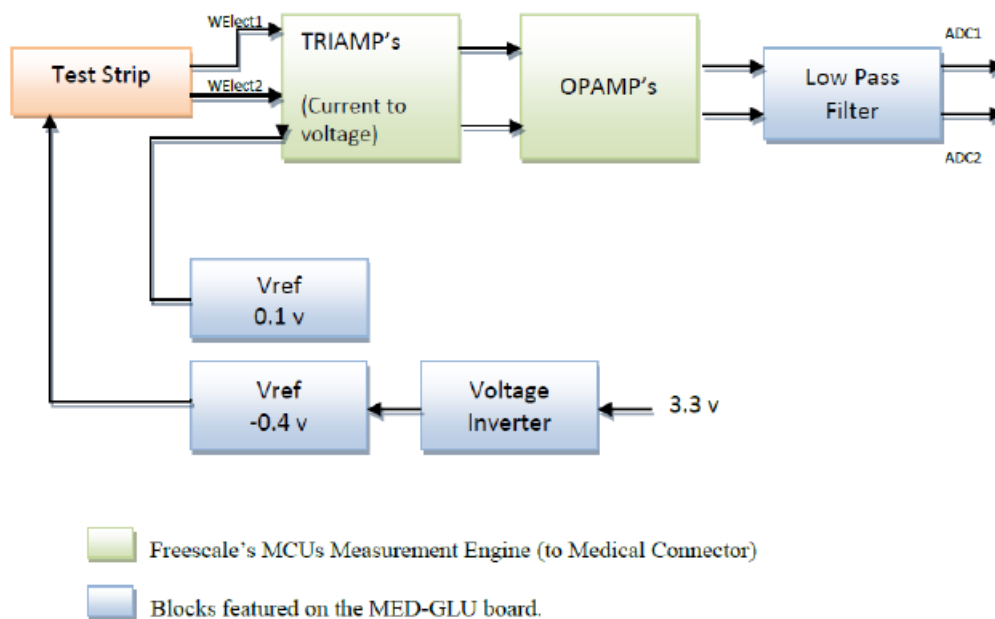
3.1 Základní implementace osobního glukometru

Glukometr obsahuje adaptérovou desku MED-GLU, která zahrnuje všechny komponenty nezbytné k fungování glukometru implementovanou pomocí Freescale MCU Kinetis K53, MCF51MM nebo S08MM128 MCU součástí rodiny Flexis MM.[51]

K53 v tomto měřicím obvodu obsahuje [51]:

- Provoz s velmi nízkým příkonem
- Dva operační zesilovače (OPAMP)
- Dva transimpedanční zesilovače (TRIAMP)
- 2×12 bitový digitálně-analogový převodník
- 2×16 bitový analogově-digitální převodník
- až 31 kanálů s programovatelnými zesilovači
- Interintegrovaný obvod
- USB připojení

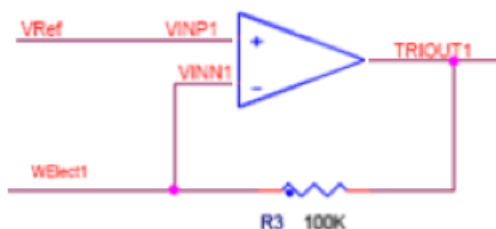
Blokové schéma všech komponent nezbytných pro fungování glukometru je zobrazeno na obrázku 3.1.



Obr. 3.1: Blokové schéma – komponenty nezbytné pro fungování glukometru, převzato z [51]

3.1.1 Transimpedanční zesilovač – převod proudu na napětí

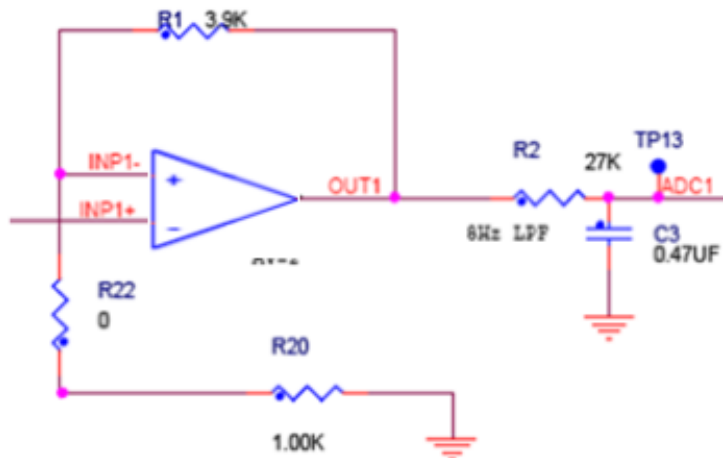
Výsledná hodnota glykemie, která je zobrazena na displeji glukometru, je změřený proud úměrný koncentraci glukózy v krvi. Aby bylo možné tento proud správně filtrovat a zpracovávat, je nejprve transimpedančním zesilovačem převeden na napětí. Tento zesilovač má jeden zdroj napájení, nízké vstupní kompenzační napětí, nízký vstupní kompenzační a zkreslený proud TRIAMP zabudovaný na K53 a odpor externí zpětné vazby.[51] Tento obvod s transimpedančním zesilovačem je zobrazen na obrázku 3.2.



Obr. 3.2: Transimpedanční zesilovač jako převodník proudu na napětí, převzato z [51]

3.1.2 Zesílení a filtrace

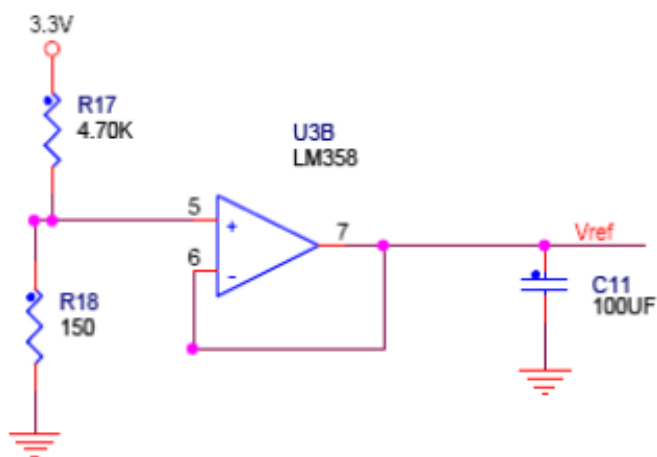
Tento obvod na obrázku 3.3 obsahuje zesilovač a filtr typu dolní propust s mezní frekvencí 8 Hz pro filtraci vysokofrekvenčního šumu.[51]



Obr. 3.3: Obvod pro zesílení a filtraci, převzato z [51]

3.1.3 Generátor referenčního napětí

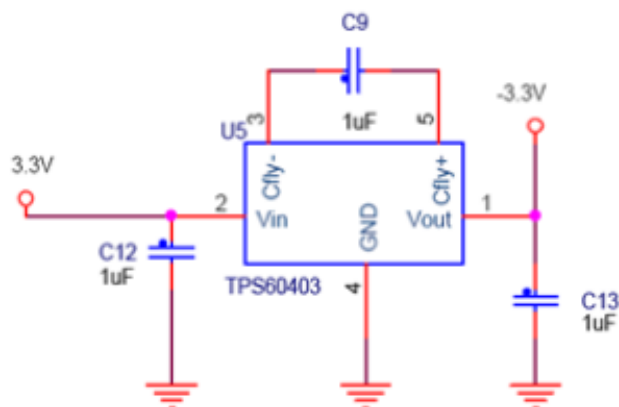
Na obrázku 3.4 je obvod, kde $V_{ref} = 0,1V$ je generováno jednoduchým napěťovým děličem a externím operačním zesilovačem (OPAMP).[51]



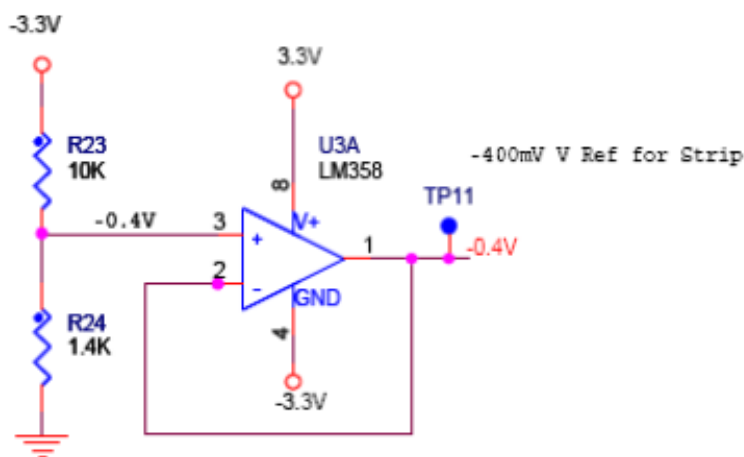
Obr. 3.4: Obvod generátoru referenčního napětí 0,1 V, převzato z [51]

3.1.4 Měníč referenčního napětí

Záporné napětí $V_{ref} = -0,4V$ pro referenční elektrodu testovacích proužků je získáno DC/DC měničem z kladného napětí (obr. 3.5) a upraveno na potřebnou hodnotu jednoduchým děličem napětí s OZ, který funguje jako impedanční oddělovač (sledovač napětí, obr. 3.6).[51]



Obr. 3.5: Obvod měniče napětí, převzato z [51]



Obr. 3.6: Obvod generátoru referenčního napětí $-0,4V$, převzato z [51]

3.2 Přesnost měření osobních glukometrů

Vzhledem ke stále se zvyšujícímu počtu lidí s diabetem a jeho následných vážných komplikací, je kladen velký důraz na přesnost měření osobních glukometrů. Díky správně stanovené hladiny glukózy v krvi je možno zamezit hrozící hypoglykémii či hyperglykémii a stavů z toho vyplývajících.[19, 37]

Základem hodnocení kvality těchto malých, přenosných přístrojů je založeno na srovnání měření s referenční laboratorní metodou pomocí specializovaných analyzátorů. Nejčastěji se využívá hexokinázová nebo glukózooxidázová metoda v akreditované laboratoři.[20, 37]

Přesnost (precision) glukometrů je charakterizovaná dvěma parametry, respektive jejich kombinací.[20] Jedním z nich je tzv. reproducibilita měření (accuracy), která hodnotí, jak se od sebe liší dva naměřené výsledky opakovaným měřením stejného vzorku. Druhým parametrem je pravdivost (trueness), která určuje, jak moc si jsou hodnoty opakovaného měření stejného vzorku podobné s referenční metodou.[37]

Chyba vzniklá nepřesným měřením může být způsobena mnoha aspekty. Častými aspekty v rámci preanalytické chyby měření kvality glukometrů jsou u většiny pacientů změny v hodnotách hematokritu, vysoký krevní tlak, hypoxie či interference s řadou léků. Pokud je hladina hematokritu menší než 30 %, výsledek měření může být značně chybně vyšší, naopak hladina větší jak 55 % může vést k nižšímu výsledku měření.[13] Při zvýšené hodnotě hematokritu se zvyšuje viskozita krve, což vede ke zpomalení pronikání všech látek a snížení procházejícího proudu amperometrickými přístroji. Z toho vyplývá, že vysoké hodnoty hematokritu skutečně vedou k podhodnocení reálné hodnoty koncentrace glukózy. Taktéž zvýšený parciální tlak kyslíku v krvi může u zařízení využívajících pro stanovení koncentrace glukózy enzym glukózooxidázu podhodnotit výslednou hodnotu glykemie. Podhodnocování reálné hodnoty má však při nízkých koncentracích glukózy v krvi pozitivní vliv, jelikož pacienta včas upozorní na riziko možnosti vzniku těžkého hypoglykemického stavu a je tak ve většině případů zamezeno těmito vážným komplikacím.[41] Konkrétní výsledky mohou být také ovlivněny typem použité krve ke stanovení glykemie. Z hlediska odlišných hodnot mezi kapilární „arterializované“ krve z prstu a žilní krví, se k diagnostice diabetu kapilární krev nepoužívá. Hodnoty koncentrace glukózy v kapilární krvi jsou za běžných podmínek vyšší přibližně o 0,3 mmol/l a v případě stresových situací či po jídle až o 2,5 mmol/l.[46]

Analytické chyby jsou často způsobeny interferencí s jinými cukry v krvi než s glukózou (např. maltóza, galaktóza, fruktóza a další) či jinými látkami (kyselina močová, kyselina askorbová a jiné). Možná chyba v rámci měření může být způsobena například konstrukcí nebo kvalitou odlišných šarží testovacích proužků,

použitou metodou či vnějšími podmínky – zejména teplota a vlhkost.[20]

3.3 Testování osobních glukometrů v praxi

V Evropské unii je pro uvedení glukometru na trh nutné, aby splňoval požadavky dané normou ISO 15197:2013 („In vitro diagnostic test system – Requirements for blood-glucose monitoring system for self-testing in managing diabetes mellitus“ v překladu „Systémy diagnostických zkoušek in vitro – Požadavky na systémy monitorování glykémie pro sebetestování pacientů s diabetes mellitus“).[26]

V České republice probíhá testování systému glukometr – testovací proužek v Referenční laboratoři pro klinickou biochemii akreditované podle normy ISO 17 025 Českým institutem pro akreditaci. Jako referenční metoda stanovení přesné hodnoty glukózy ve vzorku je využíváno stanovení hexokinázovou metodou. Testování je prováděno dle akreditovaného postupu „Stanovení glukózy systémem glukometr – měřící proužek pro ověření funkce glukometru“ a výsledky získané měřením daného glukometru jsou srovnány s hexokinázovou metodou v žilní krvi. Pokud testování přístroje požaduje výrobce, musí referenční laboratoři dodat 2 glukometry a minimálně 400 testovacích proužků ze dvou výrobních šarží. Testování zahrnuje i porovnání výsledků naměřených ze žilní a kapilární krve, které se provádí za pomoci 10 dobrovolníků, kteří jsou testováni na lačno.

Důležitými aspekty, které se běžně sledují při testování přesnosti glukometrů jsou opakovatelnost, mezilehlá preciznost a pravidelnost měření. Opakovatelnost, neboli preciznost za podmínek opakovatelnosti, zahrnuje opakování měření, v co nejkratším časovém úseku stejným přístrojem i postupem ve stejném prostředí. Mezilehlá preciznost se liší pouze v časovém úseku měření, který je delší než při opakovatelnosti (minimálně 10 dní). Pravdivost měření je charakterizovaná jako těsnost shody mezi aritmetickým průměrem nekonečného počtu opakovaných naměřených hodnot a referenční hodnoty. Vzorky krve jsou získávány od dobrovolných dárců, kteří musí před testováním podepsat informovaný souhlas.[8, 20, 26]

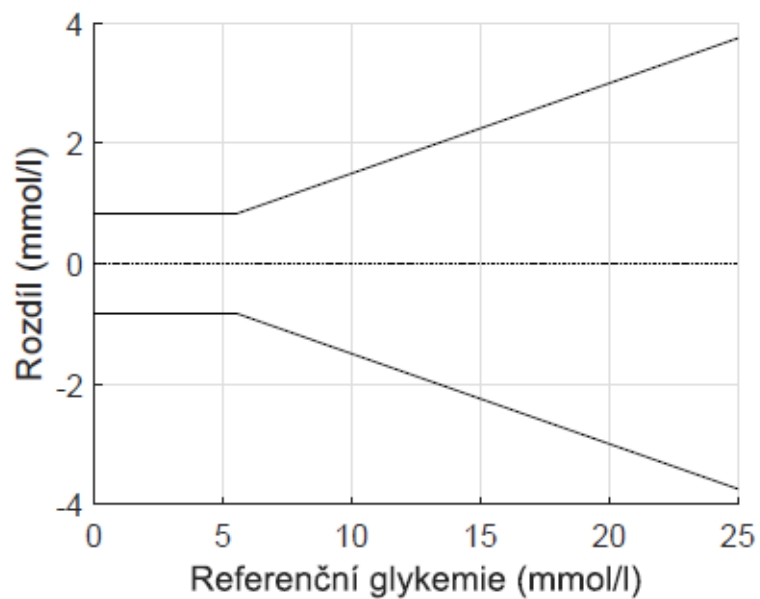
3.4 Vyhodnocení přesnosti měření osobních glukometrů v praxi

Přesnost měření zařízení pro měření hladiny koncentrace glukózy v krvi je důležitým parametrem. Požadovaná přesnost měřícího zařízení je daná normou ČSN ISO 15197:2013, která stanovuje přesnost měření následovně:

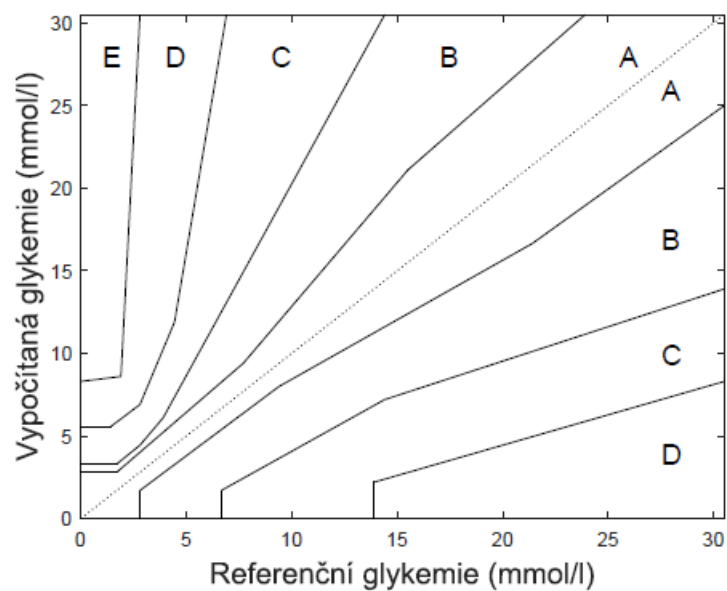
- více než 95 % výsledků měření musí být v toleranci $\pm 0,83$ mmol/l pro koncentrace $< 5,6$ mmol/l,
- více než 95 % výsledků měření musí být v toleranci ± 15 % pro koncentrace $\geq 5,6$ mmol/l,
- zároveň 99 % výsledků měření se musí nacházet v zónách A a B chybové mřížky (gridu) Parkes Error Grid analýzy.

První dvě kritéria lze vyjádřit pomocí grafu na obrázku 3.7 jako závislost odchylek naměřených hodnot na referenční hodnotě. Třetí kritérium je zobrazeno na obrázku 3.8. Jedná se o graf Parkes Error Grid analýzy, který se nejčastěji využívá při vyhodnocení přesnosti měření zařízení pro měření koncentrace glukózy. Graficky je rozdělen do pěti zón, kde každá představuje klinicky významnou část. Zařízení, které se považuje za přijatelné, disponuje výsledky měření v zónách A a B. Zóna A zahrnuje naměřené hodnoty, které se od referenční glykemie neliší o více než 20 %. Zóna B zahrnuje hodnoty, které sice přesahují chybu 20 %, ale klinicky jsou stále přijatelné.[16]

Osobní glukometry využívané při „selfmonitoringu“ by měly být podle doporučení České diabetické společnosti kontrolovány 1× ročně, srovnáním naměřené hodnoty koncentrace glukózy s hodnotou získanou z laboratoře, v případě glukometrů využívaných v ambulancích pak 2× ročně. Každý glukometr také v balení obsahuje tzv. kontrolní roztok, který slouží k domácímu ověření, zda glukometr a testovací proužky fungují správně. Tento roztok by měl být pro kontrolu použit minimálně 1× týdně, avšak hodnocení výsledků měření musí být pravidelně kontrolováno pověřenými pracovníky laboratoří.[8, 13, 16, 26]



Obr. 3.7: Rozdíl (odchylka) výsledku získaného glukometrem od referenční hodnoty s vyznačenými liniemi povolených odchylek dle normy ISO 15197:2013, převzato z [16]



Obr. 3.8: Klinicky významné zóny – graf Parkes Error Grid, převzato z [16]

4 Měření a analýza přesnosti osobního glukometru

4.1 Referenční vzorek pro testování

Důležitou součástí při hledání vhodného referenčního vzorku je navrhnout takový vzorek, který bude při měření vykazovat časovou stálost, přesnost, správnost a opakovatelnost měření.

Experimentálně navržené vzorky pro otestování osobního glukometru byly namíchány v laboratoři Masarykovy univerzity v Brně jako roztok monohydrátu glukózy a ultračisté vody ¹ ve třech různých koncentracích, a to 2,5 mmol/l pro simulaci hypoglykemie, 5,0 mmol/l pro simulaci fyziologické hladiny a 15,0 mmol/l pro hyperglykemii. Potřebné množství glukózy bylo vypočteno podle chemického vzorce pro látkovou (molární) koncentraci. Hmotnosti vypočtené navážky glukózy i množství použité ultračisté vody, ve které byla látka rozpuštěna jsou zaznamenány v tabulce 4.1, kde c představuje známou koncentraci roztoku, V objem použité ultračisté vody, M_r molární hmotnost monohydrátu glukózy a m hmotnost vypočítané navážky glukózy.

Tab. 4.1: Stanovené hodnoty koncentrací a vypočítaná hmotnost glukózy

c [mmol/l]	V [ml]	M_r [g/mol]	m [mg]
2,5	200,0	198,17	0,0991
5,0	200,0	198,17	0,1982
15,0	200,0	198,17	0,5945

Ze známé koncentrace c a objemu V lze vypočítat podle vzorce (4.1) pro látkovou (molární koncentraci), kolik je potřeba navážít glukózy.

Po reálném navážení glukózy je nutné přepočítat hodnoty koncentrací, pro zjištění jejich přesné hodnoty opět ze vzorce (4.1),

$$c = \frac{n}{V} = \frac{m}{M \cdot V} \quad (4.1)$$

kde m je požadovaná hmotnost navážky, M molekulová hmotnost glukózy a V objem tekutiny. Vypočítané hodnoty jsou zaznamenány v tabulce 4.2, kde c je odpovídající hodnota koncentrace roztoku, V objem použité ultračisté vody, M_r molární

¹Ultračistá voda je demi destilovaná voda vhodná pro laboratorní použití

Tab. 4.2: Reálná navážka glukózy a odpovídající hodnoty koncentrací roztoků

c [mmol/l]	V [ml]	Mr [g/mol]	m [mg]
2,51	200,0	198,17	0,0994
5,03	200,0	198,17	0,1992
15,01	200,0	198,17	0,5949

hmotnost monohydrátu glukózy a m hmotnost reálné navážky glukózy. Vypočtené hodnoty jsou zobrazeny s vyšší přesností.

Vzhledem ke známé koncentraci namíchaných roztoků není pro testování glukometrů nutná referenční laboratorní metoda pro ověření správnosti výsledků, jelikož tento způsob poskytuje dostatečně přesnou „referenci“.

4.1.1 Plazmatický ekvivalent

Stanovení glykemie pomocí osobních glukometrů je založeno na odečtu hodnot z *plné* krve², kde jsou hodnoty glykemie přibližně o 14 % nižší, než při měření v krevní plazmě.[37] Glukóza v plné krvi a plazmě se liší z důvodu obsahu červených krvinek, které spotřebovávají glukózu k zisku energie. Stanovení glykemie z plazmy, která neobsahuje krevní elementy (červené krvinky a krevní destičky), je využíváno při vyšetření v laboratořích a většina glukometrů je kalibrována tak, aby poskytovaly výsledky měření přepočtené na tzv. „plazmatický ekvivalent“, výsledky měřené pomocí osobního glukometru jsou tak kompatibilní s laboratorními testy. Změřený proud osobním glukometrem je převeden na ekvivalentní hodnotu glukózy pomocí charakteristické rovnice, která obsahuje kalibrační konstanty nastavené výrobcem. Výsledná hodnota na displeji osobního glukometru není tedy přímá hodnota, ale kalibrována na plazmu.[13, 35] Tento přepočet může v rámci tohoto experimentu využívající laboratorně namíchané vzorky, nikoliv reálnou krev, zkreslit naměřené hodnoty.

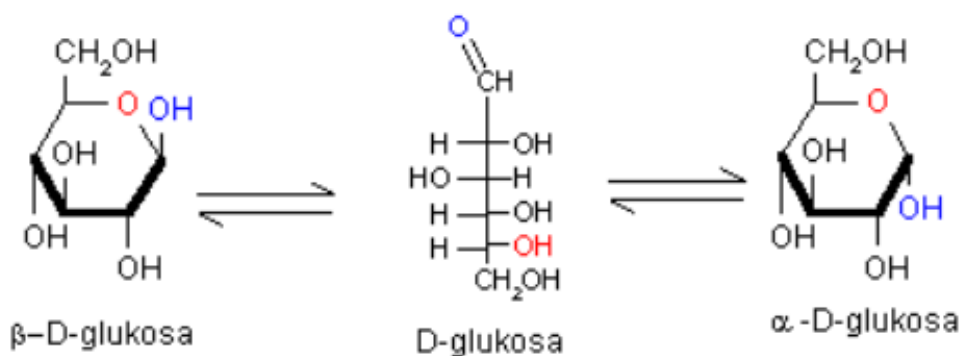
4.1.2 Glukóza v roztoku

Glukóza patří mezi monosacharidy, které jsou velmi dobře rozpustné ve vodě. Tyto látky obsahují chirální uhlíky a mohou podléhat změně optické aktivity. Tuto změnu lze vidět na obrázku 4.1. Uplatňuje se zejména při polarimetrickém stanovení glukózy v roztoku, ovšem není vyloučena skutečnost, že k jistému zkreslení může dojít i při amperometrickém stanovení.

²Plnou krví se zde rozumí krev včetně všech krevních elementů, tj. destiček, krvinek, atd.

Monosacharidy se dělí na D- a L- podle konfigurační na chirálním uhlíku, který je nejvíce vzdálený od karbonylové skupiny. Toto rozřazení nemá žádný vztah k optické otáčivosti, jedná se pouze o polohu hydroxylové skupiny (-OH) na tomto chirálním uhlíku vpravo či vlevo.[11] Jako krystalické látky, se vyskytují v krystalickém stavu v cyklických strukturách jako α a β anomery. Pokud je tato látka rozpuštěna v roztoku, dojde po určité době k rovnovážnému stavu mezi těmito anomery. Tento jev je označován jako tzv. „mutarotace“, která má za následek změnu optické otáčivosti daného monosacharidu a její přítomnost může rapidně zkreslit výsledky měření. Na rychlost tohoto jevu může mít vliv mnoho faktorů, zejména teplota.[22]

Při neutrálním pH, tedy $pH = 7$, je glukóza v roztoku v cyklické hemiacetální formě jako 63,6% β -D-glukopyranóza a 36,4% α -D-glukopyranóza. Při enzymatickém stanovení její koncentrace pomocí osobního glukometru a testovacích proužků využívajících enzym GO_x , se glukóza specificky váže na β -D-glukopyranózu. Takto je možné oxidovat veškerou glukózu v roztoku, jelikož rovnováha mezi α a β anomery je více poháněna směrem k β anomerům. GO_x tedy reaguje s β formou D-glukózy.[6] Lze tedy usuzovat (a dostupná literatura se o tomto vlivu nezmiňuje), že tento jev může být jeden z faktorů, jež může reálně ovlivnit naměřené hodnoty.



Obr. 4.1: Změna optické otáčivosti glukózy ve vodném prostředí, převzato z [54]

4.2 Vlastní testování osobního glukometru

4.2.1 Popis vybraného osobního glukometru

Pro testování přesnosti a správnosti měření byl k dispozici osobní glukometr značky FORA typu Diamond Mini DM30b. Systém je složen ze tří hlavních komponent - glukometru, testovacích proužků a kontrolního roztoku. Glukometr FORA Diamond

disponuje lehkou a nenápadnou konstrukcí s rozměry (93,0×26,3×5,7) mm. Důležitou součástí je čitelný LCD displej a bezdrátové bluetooth připojení k mobilnímu telefonu. Nápájení glukometru je umožněno pomocí dobíjecí Li-polymerové baterie, kterou je možno nabíjet pomocí USB kabelu připojeného ke zdroji napájení. Měření koncentrace glukózy v krvi probíhá standardně pomocí testovacích proužků, na které je v domácích podmínkách nutno nanést 0,5 μ l vzorku kapilární krve. Ve zdravotnickém zařízení je možno provést vyhodnocení i z krve žilní. Přístroj je kalibrován na výsledky srovnatelné s měřením v plazmě, tudíž jsou změřené hodnoty přepočítány na již zmíněný „plazmatický ekvivalent“.

Glukometr umožňuje odběr vzorku krve z alternativních míst na těle, je však nutné vyměnit průhledný uzávěr, který je součástí balení.[17] Vyhodnocení výsledku trvá 5 sekund. Měřicí rozsah, který je schopno toto zařízení zaznamenat se pohybuje od 1,1 do 33,3 mmol/l. Zařízení pracuje na amperometrickém principu a k reakci je využíván enzym flavinadenin dinukleotid dependentní glukózodehydrogenáza (FAD-GDH). Výrobce garantuje nezměněné výsledky pro hodnoty hematokritu v rozmezí 20 – 60 %.[8]

Stejně jako u každého glukometru, po kterém požadujeme správné vyhodnocení, je nutné dodržovat podmínky skladování, a to vhodnou teplotu a vlhkost. Skladovací teplota by se měla pohybovat od -20°C do 60°C s vlhkostí pod 95%. Provozní teplotu a vlhkost je pak nutné udržovat mezi 10°C až 40°C s vlhkostí pod 85 %.[18]

Samotné zařízení glukometru FORA Diamond Mini a testovací proužek FORA Diamond lze vidět na obrázku č. 4.2.



Obr. 4.2: Glukometr FORA Diamond Mini DM30b a testovací proužek FORA Diamond

4.2.2 Stanovení počtu potřebných měření

Počet měření pro testování glukometrů byl stanoven dle výpočtu z matematické statistiky – metrologie.³ Pro zjištění odchylky při měření glukometrem je potřeba provést N nezávislých měření. K dispozici máme glukometr, který měří hodnotu glukózy v krvi s přesností a %, přičemž požadujeme přesnost měření b %. Dle parametrů a , b zjistíme pomocí výpočtu 4.2 parametr x , přičemž platí, že $b < a$

$$x = \frac{a}{b} \quad (4.2)$$

Za těchto podmínek lze stanovit N měření z rovnice 4.3.

$$N = x^2 \quad (4.3)$$

Přesnost a %, se kterou měří glukometr, je udána výrobcem daného glukometru. Přesnost b % je požadovaná přesnost glukometru. Po stanovení parametrů $a = 5$ %, $b = 1$ % a jejich dosazení do uvedených rovnic zjistíme, že počet potřebných měření pro testování glukometrů je $N = 25$.

Je třeba provést 25 nezávislých měření pomocí glukometru a měřících proužků pro každou stanovenou koncentraci.

4.2.3 Experimentální testování glukometru

Použité pomůcky k testování:

1. Glukometr FORA Diamond Mini DM30b
2. Testovací proužky FORA Diamond; LOT: TD19G401–BOE; exp.: 1.4.2021
3. Mikrozkuřavky typu eppendorf
4. Přístroj Thermomixer comfort 5355
5. Laboratorní plastové pipety
6. Namíchané roztoky o koncentracích 2,5 mmol/l, 5,0 mmol/l a 15,0 mmol/l

Testování probíhalo podle stanoveného postupu. Testovací proužek byl vyjmut z tuby těsně před samotným testováním, kvůli zamezení případnému vlivu okolí, a poté zasunut do měřicího přístroje pro jeho kalibraci. Následně byl nanesen vzorek roztoku na testovací proužek ve velmi krátkém časovém intervalu a vyhodnocen glukometrem. Získané hodnoty pro každou koncentraci byly zaznamenány do tabulky 4.3 (str. 44), tab. 4.4 (str. 44) a tab. 4.5 (str. 45).

Prvotní experimentální testování osobních glukometrů probíhalo v domácích podmínkách, přibližně dvě hodiny po namíchání příslušných roztoků. Výsledné hodnoty byly však v průměru o 2 mmol/l vyšší, než známá koncentrace, což mohlo

³Stanovení počtu měření: prof. RNDr. Gejza Wimmer, DrSc., konzultace 1.4.2020.

být reálným ukazatelem vysoké nepřesnosti měření daného glukometru. Pro ověření správnosti výsledku byla metoda zopakována v prostředí laboratoře Masarykovy univerzity. Vzorky byly namíchány dle stejného postupu, o stejných koncentracích. Aby podmínky pro měření byly co nejvíce přiblíženy prostředí lidského těla, byly vzorky napipetovány do mikrozkušavek typu eppendorf a vloženy do přístroje *Thermomixer comfort 5355* a přibližně 2 hodiny temperovány na teplotu 37°C (viz obrázek č. 4.3).

Jelikož v rámci této práce nejsou k testování využívány reálné vzorky krve, ale laboratorně připravená glukóza konkrétní koncentrace v roztoku, je tedy nutné měření přizpůsobit žádoucím podmínkám, k dosažení co nejpřesnějších výsledků. Z tohoto důvodu budou pro vyhodnocení použity výsledky z druhé sady testování, tedy vzorky namíchané a měřené v laboratoři.



Obr. 4.3: Temperování vzorků v přístroji Thermomixer comfort 5355

Vlastní testování glukometrů proběhlo podle postupu, který je značně odlišný od testování glukometrů v akreditovaných laboratořích, ale lze podotknout, že tento experiment přinesl řadu zajímavých otázek.

Tab. 4.3: Naměřené hodnoty pro koncentraci 2,5 mmol/l

Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]	Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]
1.	2,7	-0,2	14.	2,6	-0,1
2.	2,7	-0,2	15.	2,6	-0,1
3.	2,6	-0,1	16.	2,6	-0,1
4.	2,6	-0,1	17.	2,8	-0,3
5.	2,6	-0,1	18.	2,7	-0,2
6.	2,6	-0,1	19.	2,7	-0,2
7.	2,6	-0,1	20.	2,8	-0,3
8.	2,7	-0,2	21.	2,8	-0,3
9.	2,5	0,0	22.	2,7	-0,2
10.	2,7	-0,2	23.	2,7	-0,2
11.	2,5	0,0	24.	2,7	-0,2
12.	2,6	-0,1	25.	2,7	-0,2
13.	2,5	0,0			

Tab. 4.4: Naměřené hodnoty pro koncentraci 5,0 mmol/l

Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]	Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]
1.	5,8	-0,8	14.	5,7	-0,7
2.	5,7	-0,7	15.	5,6	-0,6
3.	5,6	-0,6	16.	5,7	-0,7
4.	5,7	-0,7	17.	5,5	-0,5
5.	5,7	-0,7	18.	5,5	-0,5
6.	6,0	-1,0	19.	5,5	-0,5
7.	6,0	-1,0	20.	5,7	-0,7
8.	5,7	-0,7	21.	6,0	-1,0
9.	6,1	-1,1	22.	5,5	-0,5
10.	6,0	-1,0	23.	5,5	-0,5
11.	6,0	-1,0	24.	5,7	-0,7
12.	5,6	-0,6	25.	5,3	-0,3
13.	5,8	-0,8			

Tab. 4.5: Naměřené hodnoty pro koncentraci 15,0 mmol/l

Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]	Číslo měření	c [mmol/l]	Odchylka [mmol/l]
1.	17,7	-2,7	14.	18,7	-3,7
2.	20,0	-5,0	15.	20,5	-5,5
3.	20,5	-5,5	16.	20,5	-5,5
4.	20,7	-5,7	17.	20,2	-5,2
5.	21,2	-6,2	18.	19,9	-4,9
6.	20,3	-5,3	19.	19,3	-4,3
7.	21,1	-6,1	20.	21,9	-6,9
8.	19,7	-4,7	21.	21,3	-6,3
9.	20,3	-5,3	22.	19,8	-4,8
10.	19,5	-4,5	23.	20,5	-5,5
11.	19,6	-4,6	24.	20,7	-5,7
12.	19,5	-4,5	25.	20,6	-5,6
13.	20,6	-5,6			

4.2.4 Analýza a vyhodnocení získaných výsledků

Naměřená data byla v rámci této práce vyhodnocena v programu Microsoft Excel a dle grafů na obrázku 3.7 a 3.8 (strana 37).

Hlavním cílem bylo experimentálně potvrdit či vyvrátit přesnost měření glukometru FORA Diamond Mini DM30b.

Zkoumané faktory podstatné pro vyhodnocení jsou:

- přesnost,
- reprodukovatelnost,
- opakovatelnost,
- a správnost měření.

Přesnost měření je vyjádřena jako těsná shoda mezi naměřenými výsledky při opakovaném měření tohož vzorku. Číselně ji můžeme vyjádřit pomocí směrodatné odchylky či variačního koeficientu.[30] Variační koeficient udává relativní směrodatnou odchylku a udává nám vzájemné srovnání variability souborů. Jeho hodnota je běžně udávána v procentech.[2] Vyjadřuje nám reprodukovatelnost měření, kdy za přípustnou hodnotu je brána hodnota do 5 %.[8]

Výsledné hodnoty variačního koeficientu společně s dalšími hodnotami popisné statistiky jsou zobrazeny pro každou koncentraci v tabulkách 4.6, 4.7 a 4.8.

Variační koeficient pro koncentraci 2,5 mmol je roven 3,23 %, pro koncentraci 5,0 mmol/l je 3,61 % a pro koncentraci 15,0 mmol/l je 4,32 %. Tyto hodnoty variačních koeficientů dosahují přípustné hodnoty, tudíž můžeme konstatovat, že opakovatelnost, reprodukovatelnost za podmínek opakovatelnosti a přesnost měření glukometru je za těchto podmínek splněna.

Tab. 4.6: Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 2,5 mmol/l

Střední hodnota	2,652
Aritmetický průměr hodnot	2,7
Aritmetický průměr odchylek	-0,2
Chyba střední hodnoty	0,017436
Medián	2,7
Modus	2,7
Směrodatná odchylka	0,087178
Rozptyl výběru	0,0076
Variační koeficient	3,2288148
Minimum	2,5
Maximum	2,8
Počet hodnot	25

Tab. 4.7: Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 5,0 mmol/l

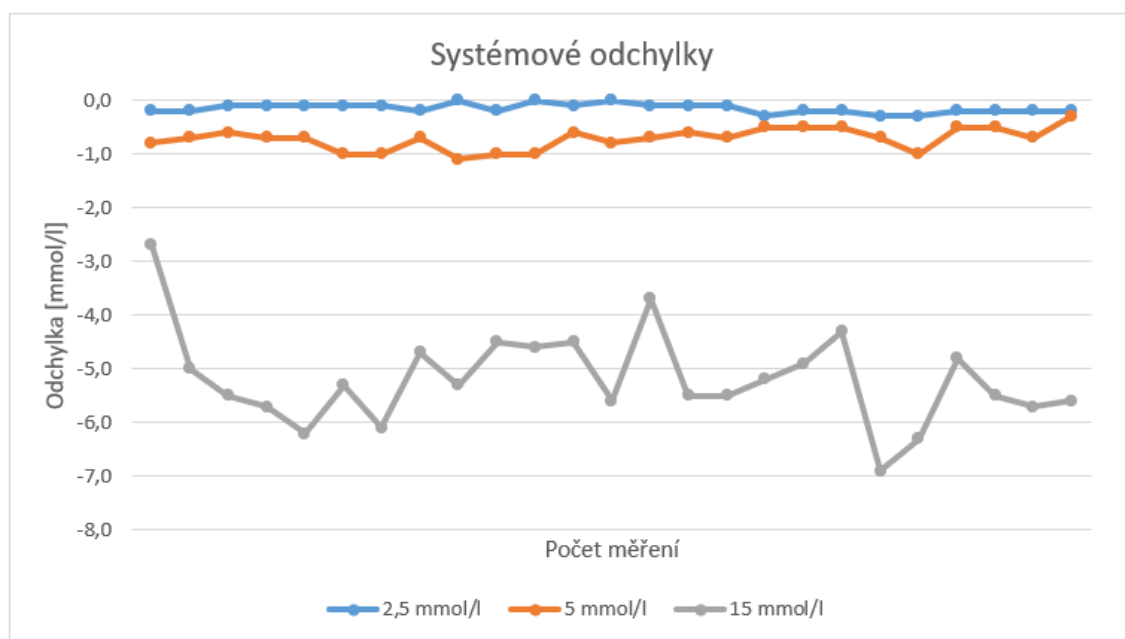
Střední hodnota	5,716
Aritmetický průměr hodnot	5,7
Aritmetický průměr odchylek	-0,7
Chyba střední hodnoty	0,041102
Medián	5,7
Modus	5,7
Směrodatná odchylka	0,205508
Rozptyl výběru	0,042233
Variační koeficient	3,6054035
Minimum	5,3
Maximum	6,1
Počet hodnot	25

Tab. 4.8: Popisná statistika naměřených hodnot pro koncentraci 15,0 mmol/l

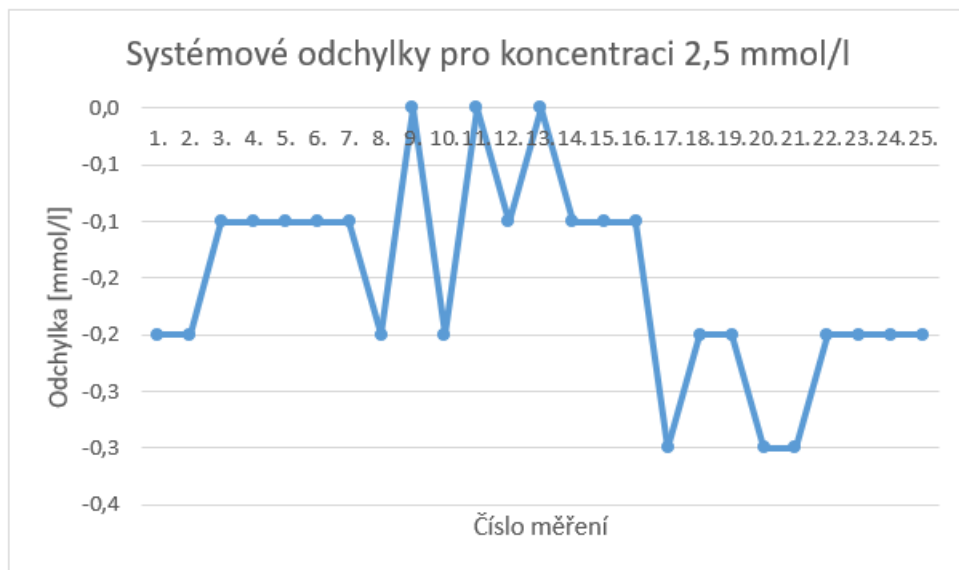
Střední hodnota	20,184
Aritmetický průměr hodnot	20,2
Aritmetický průměr odchylek	-5,2
Chyba střední hodnoty	0,174612
Medián	20,3
Modus	20,5
Směrodatná odchylka	0,87306
Rozptyl výběru	0,762233
Variační koeficient	4,3220792
Minimum	17,7
Maximum	21,9
Počet hodnot	25

Správnost měření je charakterizována jako těsná shoda naměřených výsledků s přesnou hodnotou, kterou značí laboratorně zjištěná hodnota, v našem případě známá koncentrace roztoku. Číselným vyjádřením správnosti je rozdíl průměru opakovaně naměřených hodnot na stejném vzorku a přesné hodnoty.[30] Míra nesprávnosti výsledku je chyba měření, která může být způsobena systematickou (analytickou) chybou. Vyjadřuje se jako odchylka (bias) od přesné (skutečné) hodnoty, která je podstatnou veličinou pro vyhodnocení experimentu.[9, 38]

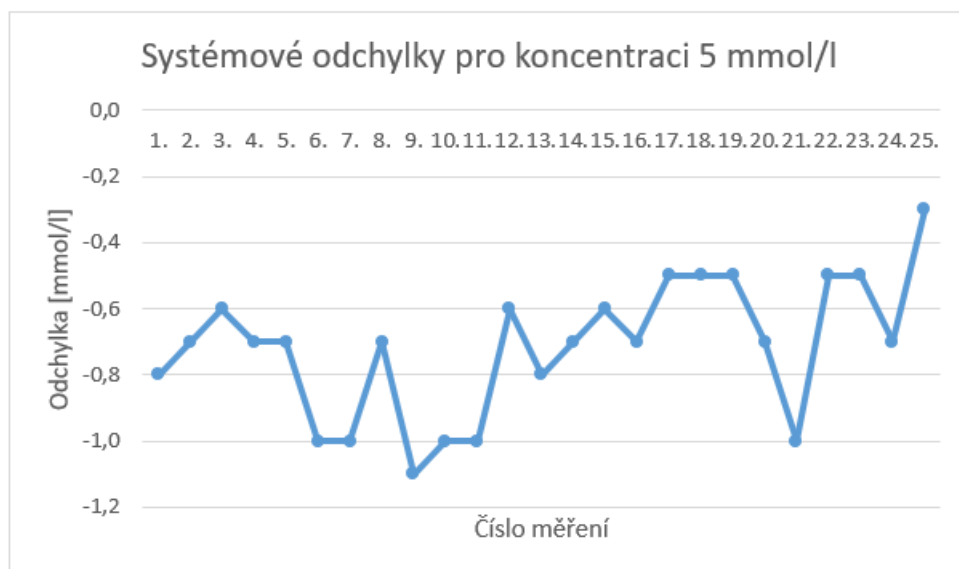
Zjištěné odchylky můžeme vidět na grafu 4.4, jejich roptyl pro jednotlivé koncentrace jsou pak zobrazeny na grafech 4.5, 4.6 a 4.7.



Obr. 4.4: Systémové odchylky jednotlivých měření pro každou koncentraci



Obr. 4.5: Velikost systémových odchylek pro koncentraci 2,5 mmol/l

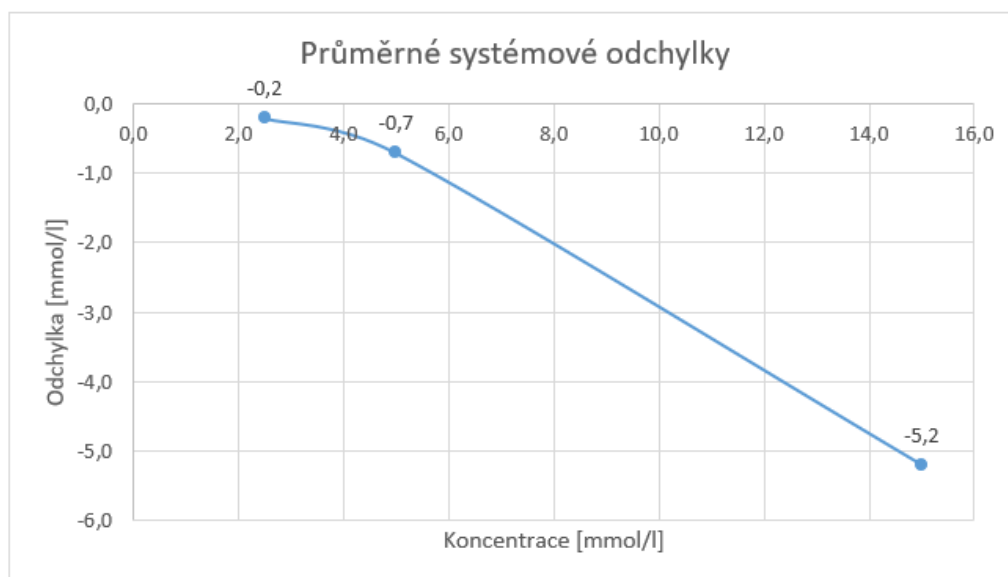


Obr. 4.6: Velikost systémových odchylek pro koncentraci 5,0 mmol/l



Obr. 4.7: Velikost systémových odchylek pro koncentraci 15,0 mmol/l

Křivka znázorňující pokles chyby měření v závislosti na koncentracích je zobrazena na grafu č. 4.8, kde jsou vyhodnoceny průměrné hodnoty systémových odchylek pro každou koncentraci. Průměrná hodnota pro koncentraci 2,5 mmol/l je rovna $-0,2$ mmol/l, pro koncentraci 5 mmol/l je $-0,7$ mmol/l a pro koncentraci 15 mmol/l pak $-5,2$ mmol/l.



Obr. 4.8: Průměrné systémové odchylky

Správnost měření pro jednotlivé koncentrace byla zkoumána nejen subjektivně dle grafů 4.4, 4.5, 4.6, 4.7 (str. 49 až 51) pro systémové odchylky, ze kterých vyplývá, že glukometr měří správněji pro koncentrace 2,5 mmol/l a 5,0 mmol/l, než pro koncentraci 15,0 mmol/l, ale také podle grafů zobrazených na obrázku 3.7 a 3.8. Výsledné hodnoty a jejich odchylky z tabulek 4.3, 4.4 a 4.5 (str. 44 a 45) byly hodnoceny podle stávajících kritérií daných normou ČSN ISO 151971.

Z výsledků vyplývá, že 100 % hodnot pro koncentraci 2,5 mmol/l splňuje podmínky dané normou ve všech případech. Podle Parkes Error Grid vyhovuje 100 % hodnot zóně A, tedy můžeme konstatovat, že všechny hodnoty se od referenční (přesné) hodnoty neliší o více než 20 %.

Pro koncentraci 5 mmol/l je 24 % hodnot mimo povolenou odchylku v rámci grafu 3.7, tedy vyhovuje pouze 76 % hodnot. Tato skutečnost tedy nesplňuje první dva požadavky dané normou, specifikované v kapitole 3.4. Podle grafu 3.8 Parkes Error Grid se však hodnoty rozléhají v zónách A a B, které jsou normou klinicky přijatelné. Jelikož však nejsou splněna všechna zmíněná kritéria daná normou, nelze tedy vyhodnotit, že glukometr měří v tomto případě správně.

V případě koncentrace 15 mmol/l se 100 % hodnot nachází mimo povolenou mez. Tyto hodnoty nevyhovují žádným požadavkům normy, tedy jsou zcela neakceptovatelné.

Ze zjištěných poznatků vyplývá, že při vyhodnocení správnosti měření glukometr vykazuje jistou citlivost na použité koncentrace roztoků. Možnost systematické chyby nelze vyloučit, přestože při měření v rámci jednotlivých koncentrací byly dodržovány stejné podmínky i stejný postup provedení experimentu k minimalizaci vzniku chyby tohoto charakteru.

Lze spekulovat, že se zvyšující se koncentrací se zvyšuje i hodnota procházejícího proudu změřeného glukometrem. Tento jev může být způsoben tím, že glukóza byla rozmíchána pouze ve vodě, která neobsahovala množství přidaných látek, které mohly určitým způsobem příznivě ovlivnit výsledky měření. Ultračistá voda použitá pro měření vykazuje vodivost 1–3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ [15] a její charakteristickou vlastností je měrná elektrická vodivost – konduktivita. Tato vodivost souvisí s množstvím iontů, které vznikají právě při rozpuštění některých látek. Ionty jsou poté schopny přenášet elektrický náboj a kapalina může vést elektrický proud. V tomto případě lze usuzovat, že glukometr je citlivý i na procházející proud prostředím měřicího média.[14]

Vzhledem k tomu, že přesnost měření glukometru je z výpočtu variačního koeficientu potvrzena, je velice pravěpodobné, že pro správnost měření hraje v tomto experimentu velkou roli právě volba vhodného fantomu pro měření. Vzhledem k současným krizovým opatřením (březen až květen 2020) byl přístup do laboratoře omezený a nebylo tak z časových důvodů možné, po zjištění výsledků naměřených na použitém roztoku, provést měření na vylepšeném a popřípadě vhodnějším roztoku.

Další poznatek, který tento experiment přinesl je, že glukometr při měření pro různou koncentraci vždy nadhodnocuje skutečnou hodnotu. Tento jev může být způsoben absencí látek v roztoku, které by určitým způsobem ovlivňovaly – snižovaly naměřený výsledek, jako je tomu při měření na reálných vzorcích krve. Vliv podhodnocování skutečné hodnoty je zmíněn v kapitole 3.2.

Vzhledem k výsledkům testování glukometru FORA Diamond Mini v Referenční laboratoři pro klinickou biochemii při Ústavu lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky VFN, je celková úspěšnost výsledků měření podle normy 98,6 %, s průměrnými rozdíly výsledků $-0,170 \text{ mmol/l}$. [8] Ve srovnání s výsledky měření této bakalářské práce a výsledky testování akreditovanou laboratoří lze usuzovat, že experiment silně závisel na použitém fantomu pro měření, jelikož průměrná procentuální dosažená úspěšnost ze všech výsledků je rovna pouze 58,67 % s průměrnými systémovými odchylkami $-5,2 \text{ mmol/l}$, což je podle kritérií stanovených normou vysoce neuspokojivý výsledek.

V závislosti na těchto podmínkách a vzniklých anomáliích nelze relevantně vyhodnotit správnost měření osobního glukometru FORA Diamond Mini DM30b, zatímco přesnost měření je z tohoto experimentu potvrzena.

Závěr

Téma této práce vzniklo na základě poznatku odlišně naměřených hodnot pomocí různých typů osobních glukometrů na stejném vzorku krve, při hledání optimálního osobního glukometru pro diabetika 1. typu. Na základě toho bylo cílem otestovat osobní glukometr a potvrdit či vyvrátit zmíněnou myšlenku. Změnou v této bakalářské práci bylo použití osobního glukometru značky FORA Diamond Mini místo osobního glukometru iHealt ALIGN BG1, u kterého byl problém s kompatibilitou testovacích proužků se starším zařízením.

Hlavním cílem bylo testovat měřicí přesnost a správnost osobního glukometru na vhodném referenčním vzorku. Pro tento experiment byl zvolen laboratorně namíchaný roztok glukózy o třech různých koncentracích pro simulaci hypoglykemie, fyziologické hodnoty a hyperglykemie. Na základě toho bylo nutné naměřit požadovaná data a náležitě je zpracovat. Z této experimentální části vzešla spousta zajímavých poznatků. Bylo zjištěno, že osobní glukometr reaguje jinak na různé koncentrace glukózy na stejném testovacím médiu, a tak je důležitá pro potvrzení přesnosti a správnosti měření volba vhodného fantomu.

V první části této práce je teoreticky zpracováno chování glukózy v těle a vliv koncentrace této látky v krvi na vznik metabolického onemocnění diabetes mellitus. Dále jsou zmíněny příčiny a projevy tohoto onemocnění ve spojení s jeho nejznámějšími typy. V této části nechybí ani popis stavů provázejících toto onemocnění, převážně hypoglykemie a hyperglykemie.

Další část se věnuje způsobu měření koncentrace glukózy v krvi, podrobnému popisu biosenzorů, zejména glukózových, které jsou nejčastěji využívány pro stanovení glykemie. Důležité bylo zmínit i elektrochemické testovací proužky využívané při tzv. „selfmonitoringu“ společně s osobním glukometrem. Dále jsou zpracovány tato měřicí zařízení s důrazem na jejich přesnost měření a testování v akreditovaných laboratořích.

V praktické části je již diskutován použitý referenční vzorek, chování glukózy v roztoku a další možné vlivy na experimentální měření. Dále je podrobně popsán dostupný glukometr, stanovení potřebných měření a postup samotného měření.

V závěru bakalářské práce je provedena analýza a vyhodnocení získaných výsledků společně s diskuzí možných vlivů na artefakty vzniklé během měření a srovnání vlastního testování s kritérii danými normou ČSN ISO 15197.

V závislosti na výsledcích této práce mohu konstatovat, že zadání práce přineslo mnoho zajímavých otázek, zejména při volbě vhodného fantomu pro otestování osobního glukometru, přesto bylo zadání splněno.

Literatura

- [1] BACA, Justin T., David N. FINEGOLD a Sanford A. ASHER. *Tear Glucose Analysis for the Noninvasive Detection and Monitoring of Diabetes Mellitus. The Ocular Surface* [online]. 2007, 5(4), 280-293 [cit. 2019-12-19]. DOI: 10.1016/S1542-0124(12)70094-0. ISSN 15420124. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1542012412700940>
- [2] BEDÁŇOVÁ, Iveta. *Charakteristiky variability (proměnlivosti souboru): BI-OSTATISTIKA. Multimediální výukový text pro studenty VFU Brno* [online]. [cit. 2020-05-25]. Dostupné z: <https://cit.vfu.cz/statpotr/index.htm>
- [3] BĚLOBRÁDKOVÁ, Jana a Ludmila BRÁZDOVÁ. *Diabetes mellitus. V Brně: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2006. ISBN 80-7013-446-1.*
- [4] Biopedia.sk. *Sacharidy* [online]. 2019 [cit. 2019-12-26]. Dostupné z: <https://biopedia.sk/biomolekuly/sacharidy>
- [5] BROŽ, Jan. *Současné možnosti monitorování glykémie. Remedia* [online]. 2006 [cit. 2019-12-19]. Dostupné z: <http://www.remedia.cz/Archiv-rocniku/Rocnik-2006/2-2006/Soucasne-moznosti-monitorovani-glykemie/e-9o-9Q-eG.magarticle.aspx>.
- [6] CASS, E.G. Anthony et al. *Ferrocene-Mediated Enzyme Electrode for Amperometric Determination of Glucose. 1984, s. 667-671.*
- [7] *Cukrovka od A do Z: co potřebujete vědět o cukrovce - jednoduše a srozumitelně. Hodkovičky: Pragma, [1997]. ISBN isbn80-7205-746-4.*
- [8] Česká diabetologická společnost ČLS JEP z.s. [online]. [cit. 2020-05-24]. Dostupné z: <https://www.diab.cz/>
- [9] DASTYCH, Milan a Petr BREINEK. *Klinická biochemie: bakalářský obor Zdravotní laborant. Brno: Masarykova univerzita, 2008. ISBN 978-80-210-4572-9.*
- [10] *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care* [online]. 2012, 36(Supplement_1), S67-S74 [cit. 2019-12-19]. DOI: 10.2337/dc13-S067. ISSN 0149-5992. Dostupné z: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc13-S067>
- [11] DOSTÁL, Jiří. *Biochemie: pro posluchače bakalářských oborů. Brno: Masarykova univerzita, 2009. ISBN 978-80-210-5020-4.*

- [12] *Dynamické vlastnosti senzorů: Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně [online]. [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: http://www.umel.feec.vutbr.cz/~adamek/uceb/DATA/s_1_3_2.htm*
- [13] *EDELSBERGER, Tomáš. Selfmonitoring glykemie. Medicína pro praxi, 2012, 9.5: 222-226.*
- [14] *Elektrická vodivost kapalin. Vybavení pro výuku přírodovědných oborů [online]. [cit. 2020-05-27]. Dostupné z: <https://www.vernier.cz/uvod/rozcestnik>*
- [15] *EUROWATER: Pure water treatment [online]. Eurowater, spol. s r.o. [cit. 2020-05-27]. Dostupné z: <https://www.eurowater.cz>*
- [16] *FOLWARCZNY, Marek. Neinvazivní zjištění hladiny glykemie založené na principu fotopletysmografie. Ostrava, 2019. Diplomová práce. VŠB - Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Doc. Ing. Martin Černý, Ph.D.*
- [17] *FORA Diamond MINI systém pro sledování cukru v krvi: Uživatelská příručka. FORA [online]. s. 2 [cit. 2019-12-27]. Dostupné z: <https://www.foracare.cz>*
- [18] *FORA : Technická specifikace [online]. [cit. 2020-06-04]. Dostupné z: <https://www.foracare.cz>.*
- [19] *FRIEDECKÝ, Bedřich, D. SPRINGER, J. KRATOCHVÍLA, J. ŠKRHA a T. ZIMA. Doporučení ke stanovení koncentrace glukózy pomocí glukometrů určené pro uživatele těchto přístrojů(možnosti a meze používání, kvalita její kontrola) [online]. [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/doporučení/POCT/Glukometry-29-1-2014.pdf>*
- [20] *FRIEDECKÝ, B., et al. Doporučení k použití, výběru a kontrole glukometrů. Klin Biochem Metab, 2014, 22: 155-164.*
- [21] *GRIESHABER, Dorothee, Robert MACKENZIE, Janos VÖRÖS a Erik REIMHULT. Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. Sensors [online]. 2008, 8(3), 1400-1458 [cit. 2019-12-19]. DOI: 10.3390/s80314000. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/8/3/1400>*
- [22] *HŘIVNA, Luděk. Technologie sacharidů. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2014. ISBN 978-80-7509-022-5.*
- [23] *HUBÁLEK, Jaromír, Jana DRBOHLAVOVÁ, Jan PRÁŠEK, Petra BUŠINOVÁ a Mária BENDOVÁ. Mikrosenzory a mikroelektromechanické systémy [online]. Brno, 2012 [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: http://www.umel.feec.vutbr.cz/absn/files/skripta_mikrosenzory_hubalek.pdf*

- [24] HUSÁK, Miroslav. *Mikrosenzory a mikroaktuátory*. Praha: Academia, 2008. Gerstner. ISBN 978-80-200-1478-8.
- [25] CHASE, H. Peter. *A first book for understanding diabetes*. 13th edition. Denver, CO: Childrens Diabetes Foundation, 2014. ISBN 9780983265047.
- [26] ISO 15197:2013: *In vitro diagnostic test systems - Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus*. 2013.
- [27] KAREN, Igor a Štěpán SVAČINA. *Diabetes mellitus: doporučené diagnostické a terapeutické postupy pro všeobecné praktické lékaře 2020*. Druhé, aktualizované vydání. Praha: Centrum doporučených postupů pro praktické lékaře, Společnost všeobecného lékařství, 2020. *Doporučené postupy pro praktické lékaře*. ISBN 978-80-88280-16-3.
- [28] KREJČÍ, Hana a Kateřina ANDERLOVÁ. *Těhotenská cukrovka*. Cukrovka [online]. 2018 [cit. 2020-05-31]. Dostupné z: <https://www.cukrovka.cz/tehotenska-cukrovka>
- [29] KULHÁNEK, Jaromír. *Stanovení glukózy v krvi pomocí osobních glukometrů* [online]. 2009 [cit. 2019-12-26]. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/>
- [30] MATÝŠKOVÁ, Miloslava a Ingrid HRACHOVINOVÁ. *Hematologie pro zdravotní laboranty*. Brno: Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, 1999. ISBN 80-7013-278-7.
- [31] McMillin JM. *Blood Glucose*. In: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edition. Boston: Butterworths; 1990. Chapter 141. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK248/>
- [32] *Medical Expo: The Online Medical Device Exhibition* [online]. [cit. 2019-12-27]. Dostupné z: <https://pdf.medicalexpo.com/pdf/foracare-suisse/duo-ultima-d40/76174-160338.html>
- [33] MLČOCH, Zbyněk. *Selfmonitoring, sledování, měření glykémie, hladiny krevního cukru, malý a velký glykemický profil* [online]. [cit. 2019-12-19]. Dostupné z: <https://www.zbynekmlcoch.cz/texty/zdravi/selfmonitoring-glykemie-maly-a-velky-glykemicky-profil>
- [34] *Nature Precedings* [online]. [cit. 2020-05-23]. ISSN 1756-0357. Dostupné z: <https://www.nature.com/npre>

- [35] NEWMAN, Jeffrey D. a Anthony P.F. TURNER. Home blood glucose biosensors: a commercial perspective. *Biosensors and Bioelectronics* [online]. 2005, 20(12), 2435-2453 [cit. 2019-12-27]. DOI: 10.1016/j.bios.2004.11.012. ISSN 09565663. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0956566304005470>
- [36] PATEL, Riddhi a Ashwini RANADE. BIOSENSORS: A SENSITIVE STRATEGY TO DETECT GLUCOSE IN BODY FLUIDS. : Department of Pharmaceutical Sciences and Technology, Institute of Chemical Technology (Formerly known as UDCT), Mumbai, Maharashtra, India [online]. 2014 [cit. 2019-12-23]. ISSN 0976-4550. Dostupné z: <https://pdfs.semanticscholar.org/e7d7/4210636b891596348bec58719c291614ce00.pdf>
- [37] PRÁZNÝ, Martin. Selfmonitoring glykemie a přesnost glukometrů. *Interní Med*, 2013, 15.6-7: 206-209.
- [38] RACEK, Jaroslav. *Klinická biochemie. 2., přeprac. vyd.* Praha: Galén, c2006. ISBN 80-7262-324-9.
- [39] RÖDER, Pia V, Bingbing WU, Yixian LIU a Weiping HAN. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental Molecular Medicine* [online]. 2016, 48(3), e219-e219 [cit. 2020-05-23]. DOI: 10.1038/emm.2016.6. ISSN 2092-6413. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/emm20166>
- [40] RYBKA, Jaroslav. Monitoring glykemického stavu - základní kámen kontroly kompenzace diabetu v ordinaci PL. *Medicína pro praxi* [online]. 2008 [cit. 2019-12-19]. Dostupné z: <https://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2008/10/04.pdf>
- [41] SCHNEIDERKA, P. et al. Část I. – Přehled a výchozí stav. *Problematika řízené POC glukometrie a zkušenosti se sítěmi glukometrů ve dvou fakultních nemocnicích: Klin. Biochem. Metab.*, 18 (39), 2010, No. 3, p. 149–160. 2010.
- [42] SKLÁDAL, Petr. Biosenzory [online]. 2002. [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: <https://docplayer.cz/15650299-Masarykova-univerzita.html>
- [43] Statické vlastnosti senzorů: Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně [online]. [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: <http://www.umel.feec.vutbr.cz/ādamek/uceb/DATA/s131.htm>
- [44] STRAKOSAS, Xenofon, John SELBERG, Pattawong PANSODTEE, Nebyu YONAS, Pattawut MANAPONGPUN, Mircea TEODORESCU a

- Marco ROLANDI. *A non-enzymatic glucose sensor enabled by bio-electronic pH control. Scientific Reports [online]. 2019, 9(1) [cit. 2019-12-19]. DOI: 10.1038/s41598-019-46302-9. ISSN 2045-2322. Dostupné z: <http://www.nature.com/articles/s41598-019-46302-9>*
- [45] ŠTECHOVÁ, Kateřina. *Technologie v diabetologii. Praha: Maxdorf, [2016]. Jessenius. ISBN isbn978-80-7345-479-1.*
- [46] ŠTECHOVÁ, Kateřina. *Selfmonitoring a jeho význam v moderní léčbě diabetu. Praktické lékařství. 2017, 13(3): 106-110.*
- [47] TONYUSHKINA, Ksenia a James H. NICHOLS. *Glucose Meters: A Review of Technical Challenges to Obtaining Accurate Results. Journal of Diabetes Science and Technology [online]. 2009, 3(4), 971-980 [cit. 2019-12-19]. DOI: 10.1177/193229680900300446. ISSN 1932-2968. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/193229680900300446>.*
- [48] VILLENA GONZALES, Wilbert, Ahmed MOBASHSHER a Amin ABBOSH. *The Progress of Glucose Monitoring—A Review of Invasive to Minimally and Non-Invasive Techniques, Devices and Sensors. Sensors [online]. 2019, 19(4) [cit. 2019-12-23]. DOI: 10.3390/s19040800. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/19/4/800>.*
- [49] WANG, Joseph. *Glucose Biosensors: 40 Years of Advances and Challenges [online]. 2000. DOI: 10.1002/1616-8984(200201)10:13.0.co.*
- [50] WILSON, Jon S. *Sensor technology handbook. 2005. Boston: Elsevier, c2005. ISBN 0-7506-7729-5.*
- [51] YANEZ, Miriam Garcia. *Glucose Meter Fundamentals and Design. Freescale Semiconductor. 2013.*
- [52] YOO, Eun-Hyung a Soo-Youn LEE. *Glucose Biosensors: An Overview of Use in Clinical Practice. Sensors [online]. 2010, 10(5), 4558-4576. DOI: 10.3390/s100504558. ISSN 1424-8220. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1424-8220/10/5/4558>.*
- [53] *Základní parametry senzorů: Ústav mikroelektroniky FEKT VUT v Brně [online]. [cit. 2019-12-23]. Dostupné z: http://www.umel.feec.vutbr.cz/~adamek/uceb/DATA/s_1_3.htm*

- [54] *Základní pojmy z biochemie: Změna optické otáčivosti cukru pozorovaná okamžitě po rozpuštění izolovaného anomeru cukru ve vodném prostředí, která je důsledkem ustavování rovnováhy mezi a- a b- formou pyranosy nebo furanosy . [online]. [cit. 2020-05-28]. Dostupné z: http://orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0186.htm*